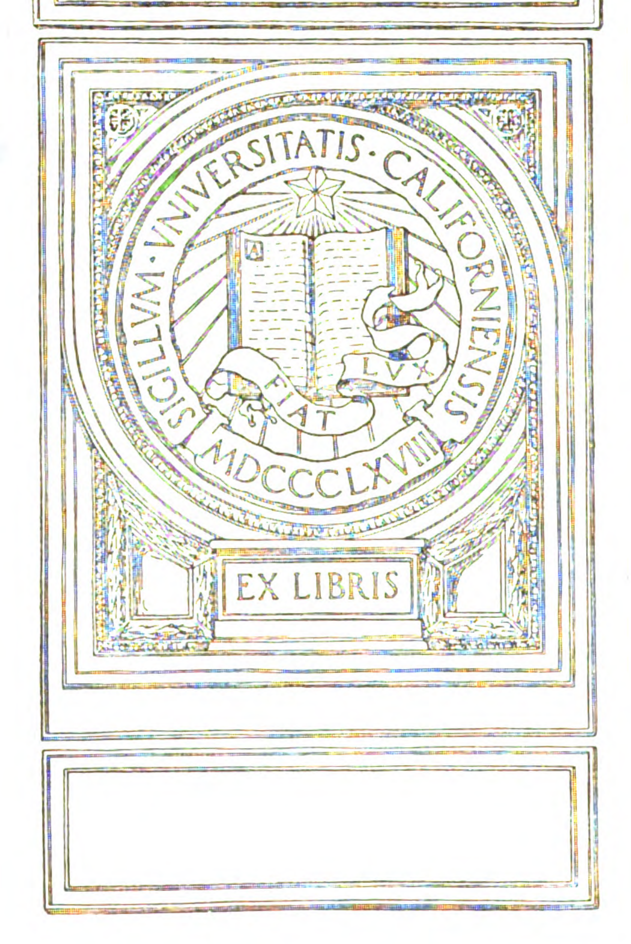

SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFECTIONSKRANKHEITEN.

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. R. KOCH, UND DR. C. FLÜGGE,

GEH. MEDICINALRATH UND DIRECTOR DES INSTITUTES FÜR INFECTIONSKRANKHEITEN ZU BERLIN,

O. Ö. PROFESSOR UND DIRECTOR DES HYGIENISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT BRESLAU.

SECHSUNDDREISSIGSTER BAND.

MIT ZAHLREICHEN ABBILDUNGEN IM TEXT UND ELF TAFELN



LEIPZIG,

VERLAG VON VEIT & COMP.

1901.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.



Inhalt.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber Entgiftung im Thierkörper.

Von

Oberarzt Dr. **F. K. Kleine**,
Assistenten am Institute.

Im Anfang dieses Jahres wurde aus der ersten medicinischen Klinik in Wien eine Arbeit veröffentlicht, die neben allgemeinerem Interesse besonders das der Toxikologen in Anspruch nahm. Czyhlarz und Donath[1] hatten bei Meerschweinchen eine hintere Extremität möglichst weit oberhalb des Knies so fest umschnürt, dass ein Abfluss von Blut oder Lymphe centripetalwärts ausgeschlossen schien, und dann dort eine Quantität Strychnin injicirt, die bei gleich schweren Controlthieren in wenigen Minuten tödtlich wirkte. Nach Ablauf von 1 bis 4 Stunden wurde die Ligatur vom Oberschenkel des Meerschweinchens wieder abgenommen, es zeigte sich nun, dass die Thiere — obgleich ihnen eine sonst in einigen Minuten letal wirkende Dosis Strychnin injicirt worden war — vollständig gesund blieben. Aus diesen Befunden glaubten Czyhlarz und Donath nur den Schluss ziehen zu können, dass durch das Unterhautzellgewebe, die Musculatur und die in diesen befindliche Blut- und Lymphflüssigkeit das Strychnin in irgend einer Weise in vivo gebunden bezw. neutralisirt wird.

Bei dieser Schlussfolgerung gehen die Autoren von der Vorstellung aus, die wir uns heute von der Wirkungsweise eines Bakterientoxins im lebenden Körper machen. Nach Ehrlich's Theorie, der ein grosser Theil von Forschern folgt, greift jedes Bakteriengift bestimmte haptophore

[1] Czyhlarz u. Donath, Ein Beitrag zur Lehre von der Entgiftung. *Centralblatt für innere Medicin.* 1900. Nr. 13.



Gruppen der Körperelemente an und wird durch sie eventuell neutralisirt. Für diese gebundenen haptophoren Gruppen wachsen neue. Tritt die Regeneration reichlich auf, so stösst sich der Ueberschuss der Gruppen schliesslich ab und kreist als specifischer Antikörper im Blut.

Wenn nun schon die Bestandtheile des abgeschnürten Meerschweinchenbeins so viele das Strychnin „greifende" Gruppen bergen, dass sonst tödtliche Dosen in verhältnissmässig kurzer Zeit unschädlich gemacht werden, müsste man dann nicht durch vorsichtige und allmählich steigende Gaben von Strychnin eine reichliche Vermehrung der haptophoren Gruppen anregen und damit eine Immunisirung gegen das Gift herbeiführen können? Dies geschieht aber nicht. Man beobachtet im Gegentheil nach längerem Gebrauche kleiner Gaben,[1] die Anfangs keine nachweisbaren Erscheinungen hervorbringen, das allmähliche Auftreten einer gesteigerten Reflexerregbarkeit. Bei fortgesetztem Gebrauch des Mittels wird leicht eine Summation oder Cumulation der Wirkung herbeigeführt.

Um diese Widersprüche aufzuklären, wiederholte ich die Versuche von Czyhlarz und Donath in der von ihnen angegebenen Weise. Injicirte man Meerschweinchen von ungefähr 350 ^{grm} die absolut letale Minimaldosis von 1·5 ^{mg} Strychn. sulfur. in den abgeschnürten Schenkel und löste die Ligatur nach einigen Stunden, so blieben die Thiere am Leben.

Der aufmerksamen Betrachtung konnte nicht entgehen, dass bisweilen das eine oder andere von den Meerschweinchen, die mit einer Ligatur versehen und gefesselt auf dem Operationstisch lagen, einige Zeit nach der Injection eine erhöhte Reflexerregbarkeit zeigte. Nahm man die doppelte Minimaldosis, so starben die Meerschweinchen nach Oeffnen der Ligatur, selbst wenn diese 4 Stunden gelegen hatte. Aus dem Umstande, dass nur Dosen, die das tödtliche Quantum nicht oder nur wenig übersteigen, entgiftet werden und aus der bisweilen beobachteten Erhöhung der Reflexerregbarkeit, glaubte ich den Schluss ziehen zu dürfen, dass aus der abgeschnürten Extremität trotz ganz fester Ligatur kleine Mengen oder Spuren von Strychnin in die Blutbahn gelangen. Ob dies auf dem gewöhnlichen Wege der Resorption oder durch Osmose durch die gequetschten Gewebstheile hindurch geschieht, bleibe dahingestellt. Strychnin gehört zu den Giften, bei denen die Letaldosis sehr nahe über der wirksamen liegt.[2] Wird von dem tödtlichen Minimalquantum auch nur wenig resorbirt und ausgeschieden, so muss der Rest wirkungslos sein.

[1] Schmiedeberg, *Grundriss der Arzneimittellehre.* Leipzig 1888.

[2] E. Harnack, Ueber den Begriff der cumulativen Wirkung in ihrem Verhältniss zu den Dosirungsgesetzen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. Nr. 44.



Um die Frage der Resorption zu entscheiden, spritzte ich in den fest durch Ligatur abgeschnürten Schenkel eines Meerschweinchens 0·5 ccm Ferrocyankalilösung. Nach 2 Stunden wurde das Thier durch Chloroformnarcose getödtet, ohne dass die Ligatur gelöst wäre. Der der Blase entnommene Harn gab auf Zusatz von Salzsäure und Eisenchlorid eine tief dunkle Berlinerblau-Reaction. Auch sämmtliche Gewebe des Oberschenkels oberhalb der Ligatur gaben diese Reaction, freilich nur in geringer Stärke. Bei späteren Versuchen zeigte bisweilen schon 50 Minuten nach der Injection entleerter Harn eine schwache Reaction. Damit ist bewiesen, dass die Annahme der genannten Autoren, ihre Ligatur sei undurchlässig, irrig ist.

Nunmehr erhielten nach Legung von Ligaturen vier starke Meerschweinchen je 4 mg Strychnin in eine hintere Extremität injicirt. Nach 4 Stunden wurden die Thiere durch Narcose getödtet und der in der Blase befindliche Harn gesammelt, stark alkalisch gemacht und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform wurde verdampft, der Rückstand in salzsäurehaltigem Wasser aufgenommen und einer Maus injicirt. Die Maus starb an Strychninkrämpfen. Ferner wurde der Harn, den 15 Meerschweinchen nach Anlegung einer Ligatur und Injection von 1·5 mg während 4 Stunden liessen, vereinigt und in der angegebenen Weise verarbeitet Auch hier traten bei einer Maus typische Strychninkrämpfe auf, die zum Tode führten. Die 15 Meerschweinchen übrigens blieben nach Lösung der Ligaturen am Leben.

Durch die Annahme und den gebrachten Beweis einer allmählichen Resorption erklären sich die Versuchsresultate von Czyhlarz und Donath in zwangloser Weise, ohne dass man eine „Entgiftung" in den Geweben des abgeschnürten Beins zu Hülfe zu nehmen braucht.

Sind überhaupt thierische Gewebe im Stande, das Strychnin zu entgiften, so werden dies voraussichtlich nur die nervösen Centralapparate sein.

Dass dies aber nicht der Fall ist, wurde von Brunner[1] in einwandsfreier Weise dargelegt. Die Forscher,[2] die das Gegentheil behaupten, deuten ihre Versuche nicht richtig. Sicherlich kann man bei Injection eines Gemisches von Hirn und einer gewissen Menge Strychnin eine bedeutende Herabsetzung bezw. eine gänzliche Vernichtung der Giftwirkung beobachten. Doch auch hier bildet verlangsamte Resorption den springenden Punkt. Wenn man eine concentrirte Chloralhydratlösung mit Hülfe

[1] Georg Brunner, Seitenkettentheorie und Strychninvergiftung. *Fortschritte der Medicin.* 1899. Nr. 1.

[2] Widal et Nobécourt, *Société méd. des hôpitaux.* Séance du 25 févr. 1898. — Abélous, *Compt. rend. hebd. de la Soc. de Biolog.* 1898. Nr. 13.



einer Spritze direct in eine Vene einführt und äusserst langsam injicirt, so dass man den Stempel der Spritze kaum sich fortbewegen sieht, so lässt sich allmählich eine beträchtliche Menge ohne Schaden einführen, die eine stundenlange gleichmässige Narcose zur Folge hat; injicirt man aber nur ein wenig zu rasch, so tritt sofortiger Herzstillstand ein.[1] Hüllt man die Letaldosis eines Giftes so ein, dass es statt in Minuten erst in vielen Stunden resorbirt wird, so wird der Tod nicht erfolgen, sofern eine genügende Ausscheidung während dieser Zeit von statten geht.[2] Beschleunigt man die Resorption etwa durch anhaltendes Massiren, so erfolgt der Exitus.

Bei Strychnin genügte bisweilen einfache Verdünnung der Letaldosis mit physiologischer Kochsalzlösung (0·3 auf 20 ^{ccm}), um den Tod abzuwenden. In jedem Falle aber schob die Verdünnung das Eintreten des Todes um eine halbe Stunde und darüber hinaus. — Es bedarf wohl keines Wortes weiter, um zu zeigen, dass die Wirksamkeit eines differenten Mittels sehr verschieden ist, je nachdem es dem thierischen Körper mit einem Male oder allmählich zugeführt wird. Unterscheidet doch auch die Pharmakopoe Maximalgaben pro dosi und pro die!

Gegen eine Bindung von Strychnin durch Nervengewebe spricht die Thatsache, dass man es z. B. aus zerriebenem Rückenmark durch Extraction mit Wasser unschwer wieder erhalten kann. Bei Zusatz von 2 ^{mg} und 1·5 ^{mg} Strychnin zur Rückenmarksubstanz fanden sich nach Eindampfen des wässrigen Extractes im Rückstand Dosen wieder, die bei 300 ^{grm} schweren Meerschweinchen heftige Krämpfe erzeugten, allerdings ohne den Tod herbeizuführen. Die in das Wasser mit übergehenden Eiweisskörper verhindern durch Verlangsamung der Resorption die acute Giftwirkung. Nimmt man zum Extrahiren der Nervensubstanz kochendes Wasser, so werden die störenden Eiweisskörper beseitigt, und man kann eine tödtliche Strychnindosis wiedererhalten. Doch gegen die Anwendung von kochendem Wasser dürfte vielleicht der Einwand erhoben werden, die hypothetische labile Strychnin-Eiweissverbindung würde durch die Hitze wieder zerstört und die „Entgiftung" aufgehoben.[3]

---

[1] E. Harnack, a. a. O.

[2] Vgl. auch Thoinot et Bronardel, *Presse médical*. 1898. Nr. 26.

[3] Zu dem Schlusse, dass Strychnin durch thierisches Gewebe nicht entgiftet wird, kommt gleichfalls eine inzwischen im *Centralblatt für innere Medicin*, Nr. 37, erschienene Arbeit aus dem pathologischen Laboratorium der Columbia-Universität in New-York von S. J. Meltzer und G. Langmann.

Die Veröffentlichung meiner Versuche wurde durch äussere Umstände leider um Monate verzögert.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber ein biologisches Verfahren zur Differenzirung der Eiweissstoffe verschiedener Milcharten.

Von

Dr. **Albert Schütze.**

Bei dem grossen allgemeinen Interesse und der hohen hygienischen Bedeutung, welche die Frage einer geeigneten Milchernährung, die nach dem Urtheile unserer berufenen Kliniker ein noch durchaus nicht gelöstes Problem darstellt, für sich in Anspruch nimmt, ist es nicht zu verwundern, dass namentlich in den letzten Jahren eine grosse Anzahl von sogenannten Milchpräparaten in den Handel gekommen sind, welche, soweit sie für die Säuglings-Ernährung bestimmt sind, zumeist so zusammengesetzt sein sollen, dass sie sich der Frauenmilch in ihrer Constitution nähern. Alle diese Bestrebungen verfolgen das Ziel, die für die Säuglings-Ernährung so wichtige Muttermilch zu ersetzen.

Es ist daher eine Frage von grundlegender Bedeutung, ob es gelingt, einen näheren Einblick in die wichtigsten Nahrungsbestandtheile der Milch, nämlich die Eiweissstoffe, zu gewinnen. Wir haben nun in der jüngsten Zeit eine biologische Methode kennen gelernt, welche uns vielleicht gestattet, diesem Problem etwas näher zu treten, die es uns aber jedenfalls ermöglicht, zu bestimmen, ob die von verschiedenen Thieren herrührenden Eiweissstoffe identisch sind oder nicht. Um diese Methode verständlich zu machen, müssen wir von einem Grundversuch Bordet's[1] ausgehen, welcher vor ca. 2 Jahren folgende Thatsache feststellte: Wenn man einem Thiere, z. B. einer Ziege, Rinderblut injicirt, so gewinnt nach einiger Zeit das Serum dieser Ziege die Eigenschaft, die rothen Blutkörperchen des Rindes zusammenzuballen und zur Auflösung zu bringen. Spritzen wir einer anderen Ziege Pferdeblut ein, so gewinnt nun diese Ziege die Eigenschaft, mit ihrem Serum die Blutkörperchen des Pferdes zusammenzuballen und aufzulösen. Nicht aber vermag das erste Ziegenserum Pferdeblut zu lösen, oder umgekehrt das der zweiten Rinderblut. Also der Vorgang ist ein streng specifischer. Man hat nun dasselbe Experiment mit anderen

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII et Avril 1899.



Zellen wiederholt. So spritzte v. Dungern[1] Meerschweinchen eine Emulsion von Flimmerepithelzellen ein und beobachtete dann in der That, dass das Serum der damit vorbehandelten Thiere nun diese zur Abtödtung bringt. Metschnikoff[2], sowie der leider so früh verstorbene Moxter[3] konnten zeigen, dass es durch Vorbehandlung von Thieren mit Hammelspermatozoën gelingt, ein Serum zu erhalten, das nur auf diese Samenzellen eine Wirkung ausübt. Kurz, durch Injectionen aller möglichen Zellenarten kann man bei Thieren ein Serum erzielen, das nur wieder die Zellen, mit welchen das Thier vorbehandelt war, in specifischer Weise beeinflusst.

Boten diese Resultate schon ein überraschendes Bild der ungeheuer vielseitigen Reactionsfähigkeit des lebenden thierischen Organismus, so that dies ein anderes Experiment Bordet's[4] in noch höherem Maasse. Dieser Autor konnte nämlich zeigen, dass nach wiederholten Injectionen von Kuhmilch bei dem hiermit vorbehandelten Thiere Stoffe im Blutserum auftreten, welche die Eiweisskörper der Kuhmilch ausfällen und zum Gerinnen bringen. Bordet deutete den Vorgang sofort sehr richtig als ein Analogon der specifischen Zusammenballung, Agglutination, wie wir diese nach der Vorbehandlung mit Blutkörperchen oder anderen Zellen durch das Serum der vorbehandelten Thiere auftreten sehen.

Diese ganz neuen und grundlegenden Versuche von Bordet veranlassten nun Hrn. Prof. A. Wassermann[5], dem ich für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes freundliches Interesse zu besonderem Danke verpflichtet bin, und mich, sie aus eigener Anschauung kennen zu lernen, und wir können in der That auf Grund der von uns gewonnenen Resultate die Angaben von Bordet voll und ganz bestätigen.

Wir gingen indess dann in unseren Versuchen weiter und legten uns die Frage vor, ob auch diese nach Injection von Milch in dem Blutserum der also behandelten Thiere gebildeten, die Milch coagulirenden Stoffe specifisch sind, und wenn dies der Fall, ob es auf diese Weise gelingt, die Eiweisskörper verschiedener Milcharten zu unterscheiden, d. h. überhaupt unzweideutig festzustellen, ob dieselben von einander different sind. Dies ist uns in der That gelungen, und A. Wassermann hat bereits in der Discussion beim diesjährigen Congresse für innere Medicin in Wiesbaden Gelegenheit genommen, diese Methode zu empfehlen, um gewisse Eiweisskörper von einander zu unterscheiden. Inzwischen ist nun ein in diesem Jahre in der medicinischen Gesellschaft zu St. Louis in Amerika von

[1] *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 38.
[2] *Annales de l'Institut Pasteur.* Janvier 1900.
[3] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 4.
[4] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. Nr. 3. p. 240 ff.
[5] Vgl. *Deutsche med. Wochenschrift.* Nr. 30. Vereinsbeilage, S. 178.

C. Fisch[1] gehaltener Vortrag in der jüngsten Zeit publicirt worden, aus welchem zu ersehen ist, dass Fisch[2] gleichzeitig mit uns ganz ähnliche Experimente angestellt hat und zu den analogen Resultaten gelangt ist.

Der Vorgang bei unseren Versuchen war ein ganz einfacher: Wir nahmen mehrere Kaninchen und injicirten einem Theil der Thiere in Zwischenräumen von 3 bis 4 Tagen mehrmals subcutan 10 bis 20 ccm, in einigen Fällen sogar auf einmal 30 bis 50 ccm roher mit Chloroform sterilisirter Kuhmilch, einem anderen Theil der Thiere die gleiche Menge ebenso behandelter Ziegen-, und einem dritten Frauenmilch, für deren gütige Ueberlassung wir der geburtshülflichen Abtheilung der Charité (Stabsarzt Green) zu grossem Danke verbunden sind. Nach ca. 3 Wochen dauernder Vorbehandlung wurde nun diesen Thieren, welche eine Gesammtmenge von etwa 100 ccm erhalten hatten, Blut entzogen, und das Serum im Verhältniss von $^1/_2$ bis 1:5 zu verdünnter (ca. 1:40) Milch zugesetzt und einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Da zeigte sich nun, dass das Serum der mit Kuhmilch vorbehandelten Kaninchen nur die Eiweisskörper der Kuhmilch ausfällt, nicht aber die der Frauen- oder Ziegenmilch, andererseits das Serum der mit Ziegenmilch vorbehandelten Thiere nur das Caseïn der Ziegenmilch u. s. w. Die zu häufigen Malen angestellten Versuche im Reagensglase haben den unzweideutigen Beweis erbracht, dass eine deutliche Ausfällung von Milch nur durch das Serum der mit der entsprechenden Milchart behandelten Thiere, auch nicht durch normales Kaninchenserum, welches stets zur Controle mit herangezogen war, zu Stande gebracht wird.

Wir haben also mittels des Bordet'schen Lactoserums eine durchaus exakt arbeitende, bequeme, biologische Methode gewonnen, welche gegenüber den bisher üblichen chemischen Verfahren grosse Vortheile bietet, um die Herkunft einer Milch zu bestimmen, und weiterhin ist ein ganz sicherer, einwandsfreier Beweis geliefert worden, dass die Eiweissmolecüle der verschiedenen Milcharten different sind. Es wird uns jetzt verständlicher, was wir empirisch schon wussten, wie verschieden gut von einzelnen Kranken die Milcharten verschiedener Thiere vertragen und ausgenützt werden.

Wir haben dann noch weitere Versuche angestellt, ob man mit Hülfe dieser neuen Methode vielleicht einen sicheren Anhaltspunkt für die Veränderung des Milcheiweisses beim intensiven Erhitzen erhält. Wenn man

[1] Studies on Lactoserum and on Other Cell-Sera. *St. Louis Courier of Medic.* Febr. 1900.

[2] Fisch hat nachgewiesen, dass man durch Einspritzung einer Emulsion von Euterzellen dieselben specifischen Stoffe im Serum erhält wie nach Injection von Milch. Es ist dies ein neuer Beweis dafür, dass die Milch nicht ein Filtrationsproduct ist, sondern eine wahre Zelllösung darstellt.



Milch etwa eine halbe Stunde hindurch der Temperatur im Dampfkochtopf aussetzt, so verliert diese Milch zum grössten Theil die Eigenschaft, auf ihr specifisches Lactoserum in der oben angegebenen Weise zu reagiren. Wir können also durch diesen Versuch nachweisen, dass beim intensiven Erhitzen eingreifende Veränderungen in dem Molecularbau der Eiweissstoffe vor sich gehen. Vielleicht ist uns durch diese Methode ein Weg gegeben, auf dem wir bei genauerer Ausarbeitung zu einer exacten Feststellung des Grades kommen können, bis zu welchem die Milch erhitzt werden darf, um bei genügender Sterilität eine geringste, d. h. eine eben wahrnehmbare Störung in ihren Eiweisskörpern zu erleiden.

Ueberblicken wir nunmehr das Ergebniss unserer Untersuchungen, so können wir daraus den wichtigen Schluss ziehen, dass *jede Thierart ihre specifische Milch hat.* Wir werden es daher, so lange wir die Eiweisskörper nicht willkürlich verändern können, als ein vergebliches Bemühen betrachten müssen, aus Kuhmilch ein Präparat herzustellen, welches der Frauenmilch in ihrer Zusammensetzung vollständig gleich kommt, obschon natürlich nicht geleugnet werden soll, dass in praxi die künstliche Säuglingsernährung unter günstigen Umständen vortreffliche Resultate liefern kann. Weiterhin werden wir unter den Ersatzpräparaten unbedingt denjenigen den Vorzug zu geben haben, bei welchen die Milch, bezw. deren Eiweisskörper, möglichst wenig verändert und in ihrem feineren Bau zerstört worden sind. Es befinden sich also die Ergebnisse dieser biologischen Methode, welche auf einer Prüfung der Milch mittels Lactoserums beruht, in voller Uebereinstimmung mit den Resultaten, wie sie die klinische Erfahrung festgestellt hat.

Wir haben hier mit Hülfe dieser biologischen Methode, welche präciser und schärfer, wie dies die chemische Analyse vermag[1], uns von der Mannigfaltigkeit der Producte der menschlichen und thierischen Zellthätigkeit überzeugt, gesehen, wie specifisch die verschiedenen Milcheiweissarten sind, und wie der thierische Organismus auf die Injection von Frauenmilch mit einem ganz anderen Product als auf die Einverleibung von Kuhmilch u. s. w. antwortet. Es sind dies Resultate, welche uns indess nicht wunderbar erscheinen können, nachdem wir durch die jüngsten Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth über Auto- und Isolysine[2] wissen, dass die Specifität der activen Substanzen im Organismus so weit geht, dass sogar das einzelne Individuum Stoffe bildet, welche nur auf seine eigenen Zellen in charakteristischer Weise abgestimmt sind und die Zellen anderer Individuen derselben Art ganz anders beeinflussen.

[1] Anmerkung während der Correctur: Vgl. Uhlenhuth, Zum specifischen Nachweis von Eiereiweiss u. s. w. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 46.

[2] *Berliner klin. Wochenschrift.* 1900. Nr. 21.

Die künstliche Darstellung der immunisirenden Substanzen (Nucleasen-Immunproteïdine) und ihre Verwendung zur Therapie der Infectionskrankheiten und zur Schutzimpfung an Stelle des Heilserums.

Von

Rudolf Emmerich und **Oscar Löw.**

(Referent: R. Emmerich.)

Wir haben gezeigt, dass pathogene Bakterien, sowohl in der künstlichen Cultur, als auch im thierischen oder menschlichen Organismus, proteolytische Enzyme zu bilden vermögen, welche im Stande sind, das Protoplasma der Bakterien, durch welche sie erzeugt wurden, aufzulösen, vorausgesetzt, dass sie in genügender Concentration und im Organismus, entweder in grosser Menge oder nach Verbindung mit Organ- oder Bluteiweiss, in hochmolecularer, haltbarer Form, zur Wirkung gelangen. Diese von den Bakterien erzeugten proteolytischen Enzyme nannten wir Nucleasen, weil sie die Nucleoproteïde des Bakterienprotoplasma auflösen. Die meisten Nucleasen vermögen nur das Protoplasma derjenigen Bakterienart aufzulösen, durch welche sie erzeugt wurden (conforme Nucleasen). Es giebt aber auch Nucleasen, welche, wie z. B. das proteolytische Enzym des Bacillus pyocyaneus, das Protoplasma verschiedener Bakterien aufzulösen vermögen (heteroforme Nucleasen). Ja noch mehr! Es giebt conforme und heteroforme bakteriolytische Nuclasen, welche zugleich im Stande sind entgiftend zu wirken, d. h. von pathogenen Bakterien in der Cultur, oder im Organismus gebildete Gifte durch Bindung oder Zersetzung unschädlich zu machen. So vermag z. B. Pyocyanase-Immunproteïdin nicht nur Diphtheriebacillen im Thier- und Menschenkörper aufzulösen, sondern auch die giftige Wirkung des Diphtherietoxins aufzuheben.

Auf der Bildung von conformen Nucleasen im Organismus und der Verbindung derselben mit Körpereiweiss zu Nuclease-Immunproteïdin beruht die künstliche Immunität gegen Infectionskrankheiten. Das Immunproteïdin besitzt nämlich die bakteriolytische Fähigkeit des freien Enzyms in vollem Maasse, d. h. es ist im Stande die in den Organismus eindringenden pathogenen Bakterien, denen es seine Entstehung verdankt, aufzulösen, und in gewissen Fällen (Pyocyonase-Immunproteïdin bei Dyphtherie, Erysipelase-Immunproteïd inbei Schweinerothlauf, Anthracase-Immunproteïdin bei Milzbrand) die betreffenden Toxine zu entgiften. Selbstverständlich ist dieses Vermögen kein unbegrenztes und auch hier spielen, aus später zu erörternden Gründen, quantitative Verhältnisse, wie überall in der Natur, eine Hauptrolle.

Um die durch das Studium der Pyocyonase und des Pyocyonase-Immuniproteïdin über die Ursache der erworbenen Immunität und des Heilungsvorganges bakterieller Krankheiten (Milzbrand u. s. w.) erlangte Erkenntniss zu verallgemeinern, d. h. um zu prüfen, ob auch bei anderen Infectionskrankheiten die gleichen ursächlichen Verhältnisse und damit die gleichen Mittel und Wege für die Schutzimpfung und Heilung gegeben sind, wählten wir zunächst die Rothlaufkrankheit der Schweine. Die Gründe, aus denen sich diese Krankheit zu Untersuchungen über die erworbene Immunität besonders eignet, hat der eine von uns (Emmerich[1]) schon früher auseinander gesetzt.

Man hat es beim Rothlauf mit einer echten, septicämischen Infectionskrankheit zu thun, bei welcher die Bacillen im Blute und im ganzen Körper Verbreitung finden, so dass man die Wirkung von Heil- oder Schutzimpfungen leicht durch vergleichende Zählung der eingeführten und der nach dem Tode der Controlthiere im Blut- und Körpergewebe der Schutzimpflinge noch vorhandenen Rothlaufbacillen gut controliren kann.

Wir besitzen bei dieser Infectionskrankheit grössere Versuchsthiere mit einem genügenden Grad natürlicher Disposition für die Krankheit und endlich kann man die ausschlaggebenden Versuche an Schweinen ausführen, unter denen diese Krankheit oft mörderisch wüthet, so dass ein wirksames Schutzimpfungs- und Heilverfahren für viele Länder von grosser national-ökonomischer Bedeutung ist. Endlich wurde durch die Untersuchungen des einen von uns (Emmerich), sowie durch Schütz und Voges festgestellt, dass das Blutserum immunisirter Thiere bei dieser Krankheit eine hervorragend baktericide Wirkung innerhalb des erkrankten Thierkörpers entfaltet.

[1] Emmerich, Die Ursache der Immunität, die Heilung von Infectionskrankheiten, speciell des Rothlaufs der Schweine und ein neues Schutzimpfungsverfahren gegen diese Krankheit. *Archiv für Hygiene.* Bd. XII. S. 275—327.



Die Krankheitserscheinungen des Rothlaufs werden in erster Linie durch die massenhafte Vermehrung der Rothlaufbacillen im Blute und in den Körpergeweben verursacht. Ausserdem findet aber auch, wie wir neuerdings bei unseren Versuchen feststellen konnten, eine Giftwirkung, wenn auch nur in untergeordnetem Maasse, statt. Die Belege für diese letztere Thatsache folgen weiter unten.

Hier soll aber gleich hervorgehoben werden, dass sich die von uns[1] aufgestellte Lehre von dem Chemismus der Immunität und dem Heilungsvorgange bei septicämischen Infectionskrankheiten auch für den Rothlauf in allen ihren Theilen bestätigt hat, so dass wir derselben wohl allgemeine Giltigkeit zusprechen dürfen, umsomehr als wir auch bei einigen anderen Infectionskrankheiten (Anthrax, Swineplague u. s. w.) die gleichen Verhältnisse constatiren konnten.

I. Der Immunisirungsvorgang beim Rothlauf der Schweine durch Ueberführung der mit der Cultur injicirten und im Körper gebildeten Erysipelase in Erysipelase-Immunproteïdin.

Auch beim Rothlauf wird sowohl in künstlichen Culturen, als im erkrankten Thierkörper durch die Rothlaufbacillen ein bakteriolytisches Enzym gebildet, welches im Thierkörper eine Verbindung mit Blut- oder Organeiweiss eingeht, die auch ausserhalb des Organismus künstlich dargestellt werden kann.

Das freie bakteriolytische Enzym der Rothlaufbacillen nennen wir Erysipelase, indem wir für das bakteriolytische Enzym, welches möglicherweise der Streptococcus erysipelatis s. pyogenes bildet, den Namen Streptococcase reserviren.

Die im Thierkörper bei fortgesetzter Schutzempfindung mit Rothlaufculturen gebildete, oder künstlich in vitro hergestellte Eiweissverbindung der Erysipelase nennen wir Erysipelase-Immunproteïdin.

Während die freie Erysipelase im Thierkörper rasch zersetzt wird, dringt die hochmoleculäre Verbindung des Erysipelase-Immunproteïdin nicht so rasch in die thierischen Zellen ein, sie wird daher auch nicht leicht im Thierkörper zersetzt oder aus demselben ausgeschieden.

Dieselbe ist im Thierkörper haltbar und wirkt hervorragend baktericid, indem sie ebenso wie die freie Erysipelase die Nucleoproteïde des Rothlaufbacillen-Protoplasmas auflöst. Ausserdem wirkt das Erysipelase-

[1] Emmerich u. Löw, Bakteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten durch dieselben. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI. S. 1—65.



Immunproteïdin, wie wir in dieser Abhandlung noch beweisen werden, sehr rasch innerhalb des Organismus zerstörend auf das Rothlaufbacillen-Toxin.

Das baktericid wirkende und Gift zerstörende Erysipelase-Immunproteïdin ist somit die Ursache der Immunität und der Heilung beim Rothlauf der Schweine.

Die Auflösung der Rothlaufbacillen in der Bouilloncultur durch das von denselben gebildete bakteriolytische Enzym (Erysipelase) lässt sich sogar makroskopisch demonstriren.

In den ersten 48 Stunden nach Einimpfung der Rothlaufbacillen ist die Bouillon wie durch feinste Krystalle gleichmässig getrübt; dann aber bildet sich, während sich die Bouillon klärt, allmählich am Grunde des Reagensglases ein weisser Bodensatz, welcher sich beim Schütteln nicht etwa gleichmässig vertheilt, sondern wie ein Convolut feinster, verfilzter Fäserchen, oder wie eine zerfaserte, feine Membran, in der Bouillon flottirt, während er am Boden festzuhaften scheint. Es ist langes und sehr starkes Schütteln nöthig, um die, aus den fest mit einander verklebten Bacillen bestehende, feine Membran zu zertheilen. Auch nach langem und energischen Schütteln schwimmen immer noch grössere Stücke dieses aus Rothlaufbacillen bestehenden Häutchens in der Bouillon.

Diese merkwürdige, makroskopisch sichtbare Veränderung in der Bouilloncultur ist durch das in 48 Stunden von den Rothlaufbacillen gebildete bakteriolytische Enzym — die Erysipelase — verursacht. Die Erysipelase scheint zunächst Verquellung und Schleimigwerden der Membran der Rothlaufbacillen zu bewirken, die nun zu einem ausserordentlich feinen und zarten, membranartigen Gebilde verklebt werden, welches zu Boden fällt, worauf die Bouillon wieder vollkommen klar wird. Dieser Vorgang ist identisch mit der sogenannten Agglutination, welche das Immunserum bei den specifischen Bakterien einer grösseren Anzahl von Infectionskrankheiten verursacht. Dieses membranartige Rothlaufbacillen-Convolut kann, wenn man die Bouillon nicht schüttelt, lange Zeit am Boden des Culturgefässes fast unverändert liegen, da die peripher gelagerten, verquollenen und verschleimten Bacillen, die central im Convolut gelegenen vor der lösenden Wirkung des Enzyms schützen. Schüttelt man aber die Cultur öfters kräftig durch, so wird sehr bald das ganze Bacillenconvolut nahezu völlig (bis auf anorganische Reste, Fett u. s. w.) aufgelöst und in Folge davon bildet sich keine Spur von Bodensatz mehr. Die Bouillon selbst erscheint dabei auch fast völlig klar.

Im thierischen Organismus, d. h. bei der Rothlaufinfection, liegen die Verhältnisse wesentlich anders. Auch im thierischen Körper bilden die Rothlaufbacillen bakteriolytisches Enzym (Erysipelase), welches aber,



wie schon erwähnt, zum grössten Theil rasch zersetzt oder ausgeschieden wird, so dass jeweils nur eine ausserordentlich geringe Menge von solchen, durch das Blut und die Körpersäfte hochgradig verdünnt, vorhanden ist. Da unter diesen Verhältnissen die Vermehrung der Bacillen weit überwiegender ist, als die Auflösung solcher durch die geringe Menge des vorhandenen, freien bakteriolytischen Enzyms (Erysipelase), so macht die Infection Fortschritte, die Heftigkeit der Erkrankung nimmt zu. Allmählich aber verbindet sich die kleine der Zersetzung nicht anheimgefallene Menge von bakteriolytischem Enzym mit activem Blut- oder Organeiweiss und wird nun als hochmoleculäre Eiweissverbindung im Blute haltbar und beständig, da dieselbe nicht mehr so leicht in thierischen Zellen eindringt und darin zersetzt wird, wie das viel kleinere Molecül des freien bakteriolytischen Enzyms (Erysipelase).

Mit dem Fortschritt der Krankheit sammelt sich immer mehr von dieser Heil- und Schutzsubstanz (Erysipelase-Immunproteïdin) im Organismus an und es kommt lediglich darauf an, ob die Vermehrung der Rothlaufbacillen, oder die bakteriolytische Wirkung des Erysipelase-Immunproteïdin überwiegend ist. Im ersteren Fall tritt Steigerung der Heftigkeit der Erkrankung und schliesslich der Tod, in letzterem Fall aber tritt ausgedehnte Auflösung (Vernichtung) der Rothlaufbacillen und damit, nach vollständiger Auflösung derselben Genesung ein. Zugleich aber ist der von der Krankheit genesene Organismus gegen dieselbe widerstandsfähig geworden, weil sich im Blute und in den intercellularen Körperflüssigkeiten viel Erysipelase-Immunproteïdin angesammelt hat, welches neuerdings in den Organismus eindringende Rothlaufbacillen, selbst wenn die Zahl derselben eine grosse ist, rasch aufzulösen und so eine neue Erkrankung zu verhüten vermag.

Ganz ebenso wie bei der Heilung der natürlichen (spontanen) Rothlaufinfection gestalten sich die Verhältnisse bei der künstlichen Immunisirung, welche behufs Gewinnung von Schutz- und Heilserum ausgeführt wird. Dabei ist es eine unzweifelhafte, von Emmerich[1] experimentell festgestellte Thatsache, dass solange noch Rothlaufbacillen im Thierkörper vorhanden sind, die Körpertemperatur erhöht ist und dass der Abfall derselben zur Norm die völlige Auflösung der Rothlaufbacillen anzeigt. Die Messung der Körpertemperatur ist daher ein ausserordentlich werthvolles und einfaches Mittel um festzustellen, wann der Sieg des Organismus über die Infection ein vollständiger ist. Durch die Feststellung dieser Thatsache ist die Ausführung der bakteriologischen Untersuchung von Blutproben zum erwähnten Zweck überflüssig geworden.

[1] *Archiv für Hygiene.* Bd. XII. S. 287.



Die Schutzimpfung wird bekanntlich so ausgeführt, dass man zunächst eine kleine Menge virulenter Bouilloncultur von Rothlaufbacillen, z. B. 0·01 ccm, Kaninchen in eine Ohrvene, Schweinen 0·1 ccm in die Bauchhöhle injicirt. Diese Thiere machen dann eine mit ziemlich hohem Fieber einhergehende Erkrankung durch, von welcher sie aber in 8 bis 10 Tagen genesen. Ein Theil des mit der Bouilloncultur injicirten und ein Theil des von den Rothlaufbacillen im Kaninchen- oder Schweinekörper gebildeten bakteriolytischen, d. h. Rothlaufbacillen lösenden Enzyms verbindet sich während der Erkrankung mit Blut- oder Organeiweiss zu Erysipelase-Immunproteïdin und damit haben die einmal schutzgeimpften Thiere einen bestimmten Grad künstlicher Immunität erreicht, so dass man bei der 10 Tage nach der ersten auszuführenden zweiten Schutzimpfung schon 2 bis 5 ccm Bouilloncultur intravenös oder intraperitoneal injiciren kann; es entsteht dann zwar noch leichtes Fieber, aber schon nach 24 bis 36 Stunden sind die Rothlaufbacillen im Thierkörper durch das von der ersten Schutzimpfung vorhandene Erysipelase-Immunproteïdin aufgelöst, was durch die Rückkehr der Temperatur zur Norm angezeigt wird.

Bei dieser zweiten Schutzimpfung wurde nun eine wesentlich grössere Menge Erysipelase-Immunproteïdin gebildet, da ja viel mehr Erysipelase und viel mehr Rothlaufbacillen injicirt wurden, als bei der ersten Schutzimpfung. Desshalb kann man bei der dritten Schutzimpfung, welche 8 Tage nach der zweiten ausgeführt wird, mindestens 10 bis 25 ccm unverdünnter, virulenter Bouilloncultur einem jeden der schutzgeimpften Thiere injiciren, ohne dass die Thiere merklich krank werden. Die Körpertemperatur erhebt sich wiederum 1 bis 2° C. und geht schon nach 12 bis 18 Stunden zur Norm zurück, ein Beweis, dass nunmehr, in Folge der grossen Menge Erysipelase-Immunproteïdin, die Rothlaufbacillen noch wesentlich rascher im Thierkörper aufgelöst werden, als bei der zweiten Schutzimpfung.

Man kann nun in dieser Weise die künstliche Immunität der schutzgeimpften Thiere immer höher treiben, indem man bei einer 4. Schutzimpfung Kaninchen 30 ccm, Schweinen 50 bis 100 ccm, bei einer 5. Kaninchen 50 ccm, Schweinen $^1/_2$ bis 1 Liter Bouilloncultur von Rothlaufbacillen ersteren subcutan, letzteren intraperitoneal injicirt. Weiter geht es aber nicht, hiermit ist die Grenze erreicht; denn die Injection noch grösserer Flüssigkeitsmengen (als $^1/_2$ bis 1 Liter) würde abgesehen von den darin enthalten Injectionserregern mechanische Störungen hervorrufen.

Es hätte auch gar keinen Zweck die Schutzimpfung weiter zu treiben, denn bekanntlich dauert die künstliche Immunität bei Rothlauf nur einige Wochen bis Monate, weil eben mit der Zeit doch auch gewisse Mengen



von dem hochmoleculären Erysipelase-Immunproteïdin im Kreislauf zersetzt, oder aus dem Thierkörper ausgeschieden werden.

Die Anreicherung des Blutes mit immunisirender Substanz (Immunproteïdin) hat also ihre enggezogenen Grenzen.

Auch wenn man die Immunisirung noch so sorgfältig ausführt und dieselbe bis zur Injection der höchsten Culturmengen hinaufführt: die Concentration der immunisirenden Substanz im Blutserum bleibt immer eine begrenzte und verhältnissmässig geringe.

Hierin liegt der Grund weshalb, abgesehen von der Diphtherie, die Serumtherapie und die Serumschutzimpfung bei vielen Infectionskrankheiten nicht den erwarteten Erfolg hatte und die Heil- und Schutzwirkung viel zu wünschen übrig liess.

Wir haben schon vor Jahren erkannt, dass das in der gewöhnlichen Weise hergestellte Schutz- und Heilserum bei gewissen Infectionskrankheiten nicht zu dem erwarteten Ziel, d. h. zur sicheren Heilung und lange dauernden Immunität führen wird, weil sich aus den erwähnten Gründen die Anreicherung des Blutes mit immunisirender Substanz nur bis zu einer bestimmten und zu geringen Quantität treiben lässt.

Dieser Umstand führte dazu, dass man bei der Schutzimpfung gegen Rothlauf ausser dem Blutserum immunisirter Schweine, auch noch abgeschwächte Rothlaufbacillen injicirte.

Lorenz und die Fabrikanten des Porcosan wendeten diese Methode an und verfielen damit wieder ganz in die Fehler der Pasteur'schen Schutzimpfungsmethode. Alle Einwände, welche man gegen die letztere gemacht hat, die dauernden Ernährungsstörungen, sowie leichtere und schwerere, chronische Erkrankungen bei den Impflingen u. s. w., namentlich aber die Weiterverbreitung der Rothlaufbacillen durch die Schutzimpfung und andere Nachtheile, fallen dieser höchst unvollkommenen und gefährlichen Methode zur Last.

Es ist ganz unverständlich, wie man die Anwendung und Einführung derselben als ein Verdienst bezeichnen konnte; denn diese Combination war ja für Jedermann, der sich nicht scheute früher eingetretene Gefahren (wie z. B. das unerwartete und unerklärliche Virulentwerden der abgeschwächten, zur Schutzimpfung bestimmten Rothlaufbacillen) nochmals heraufzubeschwören, ganz naheliegend und selbstverständlich.

Es ist eine rein hypothetische Annahme, deren Richtigkeit nicht erwiesen ist, wenn Manche glauben, dass die Injection der Rothlaufbacillen eine anders geartete Immunität verursache, als die durch die Injection des Immunserums erzeugte. Es kommen hierbei nur quantitative, keine qualitativen Unterschiede in Betracht, und man ist unserer Ansicht nach nicht berechtigt, von einer activen und passiven Immunität zu sprechen.



Derartige Schlagworte haben aber leider immer eine hypnotisirende Wirkung, so dass man die Hypothese als wahr hinnimmt, ohne nach der Begründung zu fragen. Vergebens sucht man in der Litteratur nach stichhaltigen Beweisen für die Existenz einer activen Immunität, welche von der sogenannten passiven verschieden sein soll.

Die Immunität wird durch die gleichzeitige Injection von Immunserum und Rothlaufbacillen allerdings eine etwas höhere, als wenn man das Immunserum allein injicirt, weil eben die Rothlaufbacillen im Thierkörper eine gewisse Menge bakteriolytisches Enzym erzeugen, welches zum Theil in Erysipelase-Immunproteïdin übergeht.

Es ist klar, dass das sogenannte Lorenz'sche Verfahren, d. h. die Combination der Emmerich'schen Serumschutzimpfung mit der Pasteur'schen Einimpfung abgeschwächter Rothlaufculturen, nicht der richtige Weg war, um an Stelle der noch nicht ausreichenden Serumschutzimpfung eine wirksamere Methode zu setzen.

Auch wir haben dieses combinirte Verfahren oft und lange vor Lorenz angewendet, um Schweine für die Serumgewinnung zu immunisiren, aber gegen die allgemeine Anwendung sprachen so schwerwiegende Gründe, dass ein gewissenhafter Forscher dieselbe nicht empfehlen durfte. Dennoch wurde sie ausgeführt, aber, wie uns scheint, mehr aus Noth, als mit Ueberlegung und wissenschaftlicher Begründung. Namentlich die letztere mangelte gänzlich. Mit Recht haben sich erfahrene und wissenschaftlich thätige Praktiker lange gegen die Anwendung dieses Schutzimpfungsverfahrens gewehrt. Es wird ein bleibendes Verdienst des um die praktische Durchführung der Schutzimpfungsverfahren so verdienten Oberregierungsrath Lydtin sein, dass er die schwerwiegenden Gründe gegen dieses Verfahren präcisirt und der praktischen Anwendung desselben so lange widerstrebt hat, bis es schien, als ob vorläufig nichts Besseres an seine Stelle gesetzt werden könne. Will man diese combinirte Schutzimpfung dennoch anwenden, dann muss jedenfalts vorher experimentell sicher gestellt sein, dass die zur Schutzimpfung verwendete, immunisirende Substanz in so ausreichender Menge dem Thierkörper einverleibt wird, dass die gleichzeitig injicirten pathogenen Bakterien durch dieselbe in kurzer Zeit völlig aufgelöst werden. Nur dann kann einer Weiterverbreitung der Infectionserreger durch die Schutzimpfung vorgebeugt werden. Bei der Lorenz'schen Art der Schutzimpfung ist dieses unerlässliche Postulat nicht erfüllt; denn nach O. Voges und W. Schütz[1]

[1] O. Voges u. W. Schütz, Ueber Impfungen zum Schutze gegen den Rothlauf der Schweine u. s. w. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXVIII. S. 83.



enthält das Blut der nach Lorenz schutzgeimpften Schweine noch 14 Tage nach der ersten Schutzimpfung grosse Mengen lebender Rothlaufbacillen.

Um die Wirksamkeit der von dem einen von uns (Emmerich) begründeten Serumschutzimpfung zu erhöhen, versuchten wir die immunisirende Substanz aus dem Blutserum auszufällen, um sie in Substanz zu gewinnen, und nun beliebig dosiren zu können. Aber auch dieser Weg konnte bei der geringen Concentration, in welcher sich das Immunproteïdin im Blute findet, um so weniger zum Ziele führen, als durch die gebräuchlichen Fällungsmittel das Gesammteiweiss des Blutes, oder ein grosser Theil desselben ausgefällt wird. Man hat alsdann das Immunproteïdin in ausserordentlich geringer Menge vermischt mit einer sehr grossen Quantität unwirksamer Eiweissstoffe, die einen völlig unnöthigen und störenden Ballast darstellen, und ausserdem wird auch die Wirkung der immunisirenden Substanz durch die Fällungsmittel beeinträchtigt. Auch die fractionirte Fällung durch Alcohol, welche Methode auf unsere Veranlassung und unter unserer Leitung Dr. Engel ausarbeitete, gab zwar bessere aber keineswegs völlig befriedigende Resultate.

Nachdem also die Serum-, Schutz- und Heilimpfung so viel zu wünschen übrig liess, musste ein **neuer Weg** gefunden werden, um zu einer wirksamen Schutzimpfungsmethode zu gelangen. Dabei war es für uns zweifellos, dass dieses Ziel mit Sicherheit nur durch die Erkenntniss des Chemismus der künstlichen Immunität zu erreichen war.

Es ist ja eine durch die Geschichte der naturwissenschaftlichen Forschung tausendfach bestätigte und ganz selbstverständliche Thatsache, dass sich aus der Erforschung der Ursachen einer Naturerscheinung die praktische Verwerthung von selbst zu ergeben pflegt.

Die chemischen Vorgänge bei der künstlichen Immunität bestehen nach dem Vorausgesagten im Wesentlichen darin, das sich das von den pathogenen Bakterien in der Cultur, oder im Organismus gebildete bakteriolytische Enzym unter dem Einfluss der Alkalisalze des Blutes mit Blut- oder Organeiweiss verbindet.

Diese Verbindung von bakteriolytischem Enzym mit Organ- oder Bluteiweiss, welche wir Immunproteïdin nennen, ist, wie gesagt, die immunisirende Substanz.

Ist eine gewisse Menge dieser hochmoleculären und desshalb schwer diosmirenden, sowie im Körper persistirenden Eiweissverbindung im thierischen oder menschlichen Organismus vorhanden, dann besitzt derselbe einen, jener Menge entsprechenden, Grad von Immunität.

II. Die künstliche Darstellung der immunisirenden Substanz, speciell des Erysipelase-Immunproteïdins (in vitro).

Nachdem diese Verhältnisse, die Bildung des bakteriolytischen Enzyms durch pathogene Bakterien und die Verbindung desselben mit Blut- oder Organeiweiss unter dem Einfluss der Alkalität des Blutes zu Nuclease-Immunproteïdin klar erkannt waren, nachdem weiterhin durch baktericide Versuche die rasche Auflösung von Milzbrand-, Diphtherie-, Typhus- und Pestbacillen durch Pyocyanase in vitro und im Thierkörper augenschein-scheinlich demonstrirt worden war, gingen wir daran die Probe auf die Richtigkeit unserer Schlussfolgerungen durch die künstliche Darstellung des Pyocyanase-Immunproteïdin zu machen.

Die Möglichkeit der künstlichen Darstellung von Antitoxin, wie man in Folge falscher Generalisirung, unrichtiger Weise die heilende und immunisirende Substanz nannte, war von den namhaftesten Bakteriologen aus theoretischen Gründen bestritten worden, und andere haben die künstliche Darstellung von immunisirender Substanz vergeblich versucht. Dieselbe war in Folge ungeeigneter, auf unrichtige Vorstellungen sich gründende Versuchsbedingungen, stets vollständig misslungen. Diese negativen Untersuchungsergebnisse wurden leider nicht veröffentlicht, aber mehrere Bakteriologen haben uns persönlich mitgetheilt, dass sie auf die Lösung dieses Problems vergebens viel Zeit und Arbeit verwendet haben.

Auch wir hatten in dieser Richtung früher vergebens gearbeitet. Jetzt aber, nachdem die im Thierkörper bei der künstlichen Immunisirung und bei der Heilung von Infectionskrankheiten sich abspielenden Vorgänge im Allgemeinen von uns erkannt waren, jetzt musste die künstliche Darstellung von immunisirender Substanz oder, wie wir sagen, von Nucleasen-Immunproteïdinen gelingen. Glückte die Lösung dieses Problems, dann war damit die sicherste Probe auf die Richtigkeit unserer Anschauung und unserer Erklärung der Immunität und Heilung gemacht.

Wir haben nun bereits in unserer Abhandlung über bakteriolytische Enzyme[1] mitgetheilt, dass es uns gelungen ist die Pyocyanase unter Erhaltung ihrer bakteriolytischen Wirkungen mit Blut- oder Milzeiweiss in eine hochmoleculäre, trypsinfeste Eiweissverbindung überzuführen, welche nicht mehr so leicht in die thierischen Zellen eindringen kann, und daher vor raschem Zerfall geschützt ist.

Wir müssen jedoch hier noch das Verfahren mittheilen, durch welches es uns gelungen ist zu diesem, von Manchen als unerreichbar bezeichneten Ziel zu gelangen.

[1] Emmerich u. Löw. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI. S. 1—65.



Nach den seit jener Zeit ausgeführten weiteren Untersuchungen besteht für uns kein Zweifel mehr darüber, dass die bei der Darstellung von Pyocyanase-Immunproteïdin angewendete Methode auch anwendbar ist, um gegen eine grössere Anzahl anderer Infectionskrankheiten immunisirende Substanz künstlich, d. h. ohne Zuhülfenahme des Thierkörpers, auf ungemein viel einfachere Weise zu gewinnen, als dies vermittelst des zeitraubenden, umständlichen und vielfach auch gefährlichen Verfahrens der Heilserum-Darstellung gegenwärtig geschieht.

Mit vollständigem Erfolg ist uns dies beim Rothlauf der Schweine und beim Milzbrand gelungen. Wir können daher jetzt behaupten, dass die Nucleasen-Immunproteïdintherapie- und Schutzimpfung bald an Stelle der viel weniger wirksamen, viel kostspieligeren und zeitraubenden Serum-Therapie- und Schutzimpfung treten wird. Die Gewinnung des Erysipelase-Immunproteïdin kann als Beispiel für das Verfahren der Darstellung von Nucleasen-Immunproteïdinen überhaupt, d. h. auch für die anderen, bakteriellen Infectionskrankheiten dienen.

Diese Darstellungsmethode kann eingetheilt werden in:

1. Gewinnung des bakteriolytischen Enzyms, z. B. der Rothlaufbacillen, d. h. der Erysipelase.

Es wäre wohl kaum möglich gewesen, überzeugende Beweise für die Richtigkeit unserer Anschauungen zu beschffaen, wenn wir zur Cultur der pathogenen Bakterien die allgemein übliche Nährbouillon verwendet hätten. In dieser Culturflüssigkeit ist die Entwickelung vieler pathogener Bakterien, wie z. B. der Rothlaufbacillen, schon nach 2 bis 3 Tagen vollständig beendet und die vorher getrübte Bouillon wird wieder völlig klar.

Bei so kurz dauernder Entwickelung wird natürlich nur sehr wenig bakteriolytisches Enzym gebildet. Es war nothwendig eine Nährlösung zu beschaffen, in welcher die Entwickelung viel länger, Wochen oder Monate dauert, um eine möglichst reichliche Zell- und Enzymernte zu erzielen. Eine solche Nährlösung muss sowohl den Säure bildenden, als auch den Ammoniak abspaltenden Eigenschaften der Bakterien Rechnung tragen. Es war ferner nothwendig, hierzu eine eiweissfreie Nährlösung zu verwenden, weil sonst späterhin bei der Ausfällung der bakteriolytischen Enzyme diese in einen überflüssigen und störenden Ballast von zugleich ausfallendem Eiweiss eingehüllt werden, was bei der Ausfällung immunisirender Stoffe aus dem Immunserum so hinderlich und misslich ist. Nährlösungen, welche allen diesen Anforderungen entsprechen, hat der eine von uns (O. Löw) angegeben. Für die Cultur des Bac. pyocyaneus verwenden wir z. B. die folgende Nährlösung:

2*



Aq. destillat.	1000
Asparagin	5
Natr. acetic.	5
Dikaliumphosphat	2
Magnesiumsulfat	0·1
Chlornatrium	2·0

Die Bacillen des Schweinerothlaufs züchten wir dagegen, behufs Gewinnung des Erysipelase-Immunproteïdin in der folgenden Nährlösung:

Aq. destill.	1000·0	ccm
Asparagin	0·8	grm
Pepton sicc.	10·0	„
Kal. Natr. tartrat	0.8	„
Natrium bicarbonic.	0·2 bis 1.0	„
Dikaliumphosphat	2·0	„
Magnesiumsulfat	0.15	„
Chlornatrium	3·0	„
Bouillon	100·0	„

Das im Handel vorkommende Dikaliumphosphat reagirt stets sauer, und muss daher mit Kalilösung neutralisirt werden. Magnesiumsulfat muss für sich in Lösung sterilisirt, und dann erst den obigen sterilisirten Lösungen zugesetzt werden. Zur Cultur anderer pathogener Bakterien muss diese Lösung modificirt und leicht assimilirbare Stickstoff- und Kohlenstoffquellen zugesetzt werden.

In diesen Nährlösungen kommen pathogene Bakterien nur dann zur Entwickelung, wenn sie in sehr reichlicher Menge eingesäet werden.

Um genügende Mengen von Nucleasen-Immunproteïdinen zu erhalten, werden zahlreiche Proben dieser Nährlösung, z. B. 10 bis 12 Liter in geeigneten je $^1/_2$ bis 1 Liter haltenden Gefässen angesetzt, und die Cultur anfangs (Wochen hindurch) bei 25° C., später bei 30 bis 37° C. geführt.

In diesen Nährlösungen geht die Entwickelung pathogener Bakterien, trotz der allmählichen Ansammlung von grösseren Mengen bakteriolytischen Enzyms, lange von statten, weil die in den oberen Schichten der Flüssigkeit befindlichen Bakterien sich gegen die auflösende Wirkung des Enzyms durch Oxydation desselben zu wehren vermögen. Wenn in dieser Nährlösung die Cultur 5 bis 6 Wochen gedauert hat und die Nährlösung sich bei allmählicher Bildung eines agglutinirten Bodensatzes zu klären beginnt, dann ist eine grosse Menge von bakteriolytischem Enzym in der Nährlösung angehäuft, und es handelt sich nun darum, die noch darin vorhandenen Bakterien aufzulösen, und mechanisch daraus zu entfernen. Zu diesem Zweck schüttelt man die Cultur mehrmals täglich energisch,



lässt schliesslich 24 Stunden ruhig stehen und saugt die in Folge der Deposition der noch nicht aufgelösten Bakterien und Bakterienreste klar gewordene Flüssigkeit vom Bodensatz ab, ohne denselben aufzurühren. Dies geschieht am besten vermittelst Vacuum, wobei man durch geeignete Hahnstellung den Flüssigkeitsstrom beliebig reguliren kann, so dass schliesslich die Nährlösung nur tropfenweise abgesaugt und dadurch ein Aufwirbeln von Bakterien verhütet wird.

Da aber die abgesaugte Flüssigkeit doch noch grosse Mengen von entwickelungsfähigen Bakterien enthält, so muss dieselbe durch Berkefeldt-Filter filtrirt werden. Zu derartigen Zwecken verwendeten wir früher Chamberland-Pasteur'sche Kerzen, welche vor 10—15 Jahren nahezu die Filtrationsergiebigkeit der Berkefeldt-Filter hatten und sicherer ein keimfreies Filtrat lieferten, als diese. Da aber seit einer Reihe von Jahren die Fabrikation der Chamberland-Filter eine unserer Ansicht nach sehr ungünstige Aenderung erfahren hat, insofern dieselben weniger porös gemacht und damit ihre Leistung in Bezug auf die Quantität der in einer bestimmten Zeit filtrirenden Flüssigkeit herabgesetzt wurde, so sind wir gezwungen, Berkefeldt'sche Kieselguhrfilter anzuwenden. Diese Fabrikationsänderung der Chamberland-Pasteur-Filter wurde offenbar im Interesse der völlig keimfreien Trinkwasserfiltration vorgenommen. Diese dichten Filterkerzen halten nun aber auch sehr viel Eiweiss oder eiweissartige, hochmoleculäre Verbindungen zurück, in Folge dessen der Gehalt des Filtrates an bakteriolytischem Enzym geringer ist, als in der unfiltrirten Lösung. Ausserdem gehen sehr concentrirte eiweissreiche Lösungen überhaupt nicht durch diese Filter hindurch. So beeinträchtigt die unbegründete Trinkwassertheorie auch in dieser Beziehung die wissenschaftliche Forschung.

Das bakterienfreie Filtrat wird nun im Soxhlet'schen Vacuumapparat bei 20—36° C. auf $^1/_{10}$ seines Volumens oder noch weiter eingedampft. Alsdann werden durch 12—24stündige Dialyse die Salze und ein Theil der giftigen Stoffe entfernt. Lassen sich noch giftige Substanzen in dieser Lösung des bakteriolytischen Enzyms durch Thierversuche nachweisen, dann lässt man unter Zusatz von 0·25—0·3 Procent Trikresol die Lösung längere Zeit (bis einige Wochen) stehen, damit der Rest des Giftes durch das bakteriolytische Enzym hydrolytisch gespalten, d. h. vernichtet wird. Dass Bakteriengifte von Enzymen mehr oder weniger energisch zerstört werden, beweisen nicht nur unsere eigenen Versuche, sondern auch die Erfahrungen Anderer, z. B. Nencki's.

Die so gewonnene giftfreie Flüssigkeit, welche die bakteriolytischen Enzyme in grosser Menge enthält, kann zu Heilzwecken Verwendung finden. Dieselbe wirkt nicht nur bakterienvernichtend, sondern auch gift-



zerstörend. Die in der geschilderten Weise bereitete Pyocyanaselösung z. B. ist ein sicheres Heilmittel bei Milzbrand. Dieselbe vernichtet auch Diphtherie- und Typhusbacillen, und man vermag eine tödtliche Vergiftung von Meerschweinchen mit Diphtherietoxin (durch fortgesetzte, subcutane Injectionen dieser Pyocyanaselösung) zu heilen.

Da aber die so gewonnenen Nucleasen im thierischen Organismus leicht zersetzt und ausgeschieden werden, so ist es besser, diese Nucleasenlösungen gleich zur Herstellung der sowohl heilend als immunisirend wirkenden Nucleasen-Immunproteïdine zu verwenden.

2. Künstliche Darstellung der immunisirenden Substanz, d. h. von Nucleasen-Immunproteïdinen (Pyocyanase-Immunproteïdin und Erysipelase-Immunproteïdin).

Durch verschiedene Thatsachen und Erwägungen gelangten wir zu der Ueberzeugung, dass die künstliche Immunität bei einer Anzahl von Infectionskrankheiten dadurch zu Stande kommt, dass sich das von den pathogenen Bakterien stammende, conforme[1] bakteriolytische Enzym unter dem Einflusse der Alkalität des Blutes mit Blut- oder Organeiweiss zu einem hochmoleculären und trypsinfesten Eiweisskörper verbindet, welcher nicht mehr so leicht wie das freie bakteriolytische Enzym in die thierischen Zellen diosmotisch eindringen kann und daher vor dem raschen Zerfall geschützt ist.

Nachdem wir ein Verfahren gefunden hatten, um bakteriolytische Enzyme pathogener Bakterien in concentrirter Lösung zu gewinnen, war noch die Frage zu entscheiden, ob es möglich ist, die erwähnte Eiweissverbindung der Enzyme ohne Zuhülfenahme des thierischen Körpers künstlich, d. h. in vitro darzustellen. Verschiedene Bakteriologen haben, wie gesagt, die Möglichkeit dieser Darstellung bezweifelt, da alle in dieser Richtung ausgeführten Versuche bisher vergeblich waren und weil nach den theoretischen Anschauungen gewisse, noch völlig unbekannte Zellfunctionen zum Zustandekommen der künstlichen Immunität nöthig zu sein schienen.

Nach unserer Theorie des Chemismus der Immunität handelt es sich dagegen bei der Bildung der immunisirenden Substanz lediglich um chemische Vorgänge, so dass dieselbe auch ohne Zellthätigkeit möglich erscheinen musste.

[1] Als conforme bakteriolytische Enzyme bezeichnen wir, wie schon erwähnt, solche, welche nur diejenige Bakterienart, von welcher sie stammen, aufzulösen vermögen, während heteroforme bakteriolytische Enzyme auch eine oder mehrere andere Bakterienarten aufzulösen und zu vernichten im Stande sind.



Das Resultat der in dieser Richtung unternommenen Untersuchungen hat die Richtigkeit unserer Anschauung bestätigt.

Nach unseren Erfahrungen besteht die nothwendige Bedingung zur Vereinigung der beiden Eiweisskörper (des bakteriolytischen Enzyms und des Blut- oder Organeiweissstoffes) in dem Vorhandensein einer genügenden Menge von Alkali im Blute. Unsere schon vor mehreren Jahren zum Theil gemeinsam ausgeführten Arbeiten[1] hatten uns von der wichtigen Rolle überzeugt, welche verhältnissmässig geringe Mengen von Kali bei der Activität der Alexine sowohl, als auch der sogenannten Antitoxine (besser aber Immunproteïdine) spielen.

Da die Alkalescenz des Blutes nur sehr mässig ist, so vermutheten wir, dass eine gegebene Menge bakteriolytischen Enzyms, z. B. Pyocyanase, unter Beibehaltung der Enzymnatur mit jenem thierischen Eiweisskörper in die gewünschte hochmoleculäre Verbindung verwandelt werden könnte, wenn man frisch gelassenes Blut, dessen Gerinnbarkeit durch Zusatz von Natriumoxalat aufgehoben wurde, in vitro unter Zusatz von geringen Mengen Aetzkali[2] damit eine bestimmte Zeit lang digerirt.

Jedem Chemiker ist ja bekannt, dass man durch Zusatz von Kali leicht Verbindungen zwischen reagirfähigen Körpern herstellen oder auch Condensationen ausführen kann.

Salz- oder Schwefelsäure können in speciellen Fällen auch solche Resultate herbeiführen, aber selbstverständlich sind diese Mittel schon deshalb hier ausgeschlossen, weil Gerinnung und Enzymvernichtung erfolgen würde.

Das erwähnte Verfahren war von Erfolg. Wir digerirten Pyocyanaselösung mit frisch gelassenem Rinderblut, welchem 0·3 Procent Natriumoxalat und 0·4 Procent Aetzkali zugesetzt wurden, 6 bis 8 Stunden bei 37° C. und erhielten hierdurch eine Lösung, welche bei Milzbrand nicht nur heilend wirkte, sondern auch immunisirend.

Wir hatten also damit das gegen Milzbrand immunisirend wirkende Pyocyanase-Immunproteïdin gewonnen.

Ebenso wie die freien bakteriolytischen Enzyme (Nucleasen), so können auch die Nucleasen-Immunproteïdine aus der genannten Blutlösung durch Eingiessen derselben in die zehnfache Menge absoluten Alkohols auch gefällt, d. h. als feste, im Wasser leicht lösliche Substanz (Trocknen im Vacuum über Schwefelsäure) gewonnen werden.

---

[1] Ist die bakterientödtende Eigenschaft des Blutes eine Lebenswirkung, oder ein rein chemischer Vorgang? *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1892. Bd. XII. S. 364, 417, 449.

[2] Es war natürlich zu erwarten, dass ein Theil des Aetzkali durch den Kohlensäuregehalt des Blutes in kohlensaures Kali übergeführt würde.



Das Pyocyanase-Immunproteïdin besitzt im Uebrigen alle Eigenschaften des freien Enzyms, d. h. der Pyocyanase. Es entwickelt mit Wasserstoffsuperoxyd ebenso energisch Sauerstoff, wie die letztere und wirkt wie diese lösend auf Tymolgelatine, geronnenes Hühnereiweiss und Fibrin.

Die Lösung des Pyocyanase-Immunproteïdin reagirt deutlich alkalisch. Die proteolytische Wirkung geht bei neutraler Reaction schwach, bei alkalischer sehr energisch von statten, während dieselbe in saurer Lösung gleich Null ist.

Setzt man zu der mit caustischem Kali, Natron oder kohlensaurem Kali, bezw. Natron schwach alkalisch gemachten Tymolgelatine noch weitere Quantitäten der ersteren zu, so ergibt sich, dass weder die überschüssig zugesetzten Mengen, noch die Art des caustischen oder kohlensauren Alkalis irgend einen Einfluss auf die Schnelligkeit und Grösse der Gelatine lösenden Wirkung der Pyocyanase haben.

Statt Blut verwendeten wir späterhin bei der Immunproteïdinbereitung frische, aus dem eben geschlachteten Thier entnommene Milz, welche in einer sterilisirten Fleischschneidmaschine fein zertheilt und in Mengen von 3 bis 5 ^{grm} zu 100 ^{ccm} filtrirter, im Vacuum auf $^{1}/_{10}$ concentrirter und dialysirter Pyocyaneusbacillencultur zugesetzt wurde. Die Menge des hinzugefügten Aetzkalis muss aber bei Verwendung von Milz entsprechend vermindert werden, da bei Anwendung von Blut ein Theil des Kalis durch CO_2 gebunden wird. Noch besser ist es, anstatt Aetzkali 0·3 Procent kohlensaures Kali zuzusetzen, da durch Aetzkali bestimmte Nucleasen geschädigt werden könnten.

Der grosse Vorzug, den die Anwendung von Milz bei der Immunproteïdinbereitung hat, liegt darin, dass man keinen Ueberschuss von Eiweiss in Lösung hat. Das nicht gelöste Milzgewebe lässt sich leicht entfernen. Fällt man alsdann durch Eingiessen in das zehnfache Volumen Alkohol, dann besteht der grösste Theil des Niederschlages aus Immunproteïdin, während bei Anwendung von Blut das gesammte Bluteiweiss mit ausfällt.

Wird die Mischung von bakteriolytischer Enzymlösung und Milzbrei (von dem 2 bis 5 Procent der Enzymlösung zugesetzt werden soll) bei 37° C. digerirt, so tritt eine sehr beachtenswerthe Erscheinung auf: Die Anfangs in der Flüssigkeit gleichmässig suspendirten Milztheilchen ballen sich zu einem grossen Klumpen zusammen, welcher mehr und mehr schleimig wird. Entsprechend der zunehmenden Verschleimung wächst die Cohärenz der Milzpartikelchen und schliesslich kleben dieselben so fest zusammen, dass sie nur durch heftiges Schütteln getrennt werden können.



Es handelt sich hier offenbar um denselben Vorgang, den man als **Agglutination** bezeichnet, wenn er bei in Immunserum suspendirten Bakterien auftritt. Hier wie dort handelt es sich, wie wir schon früher hervorgehoben haben, um Verschleimung, Zusammenballung und schliessliche Auflösung der Eiweisskörper der Bakterien oder Milzsubstanz durch proteolytisches Enzym, welches sich dabei unter dem Einflusse des Alkalisalzes mit Eiweiss verbindet und nunmehr die im Thierkörper lange haltbare immunisirende Substanz darstellt.

Die genaue Beobachtung dieses Agglutinationsvorganges bei der Immunproteïdinbereitung ist von grossem Werth für die Beurtheilung der Frage, ob die Immunproteïdinlösung zur Schutzimpfung geeignet sein wird oder nicht.

Bei geringen Mengen von bakteriolytischem Enzym tritt selbstverständlich auch die Agglutination nur schwach ein, die Milzstückchen adhärriren zwar aneinander, aber nur locker, ohne einen einzigen grossen, verschleimten Klumpen zu bilden und sie können schon durch leichtes Schütteln von einander getrennt werden. Eine derartige Nuclease-Immunproteïdinlösung wird zur Schutzimpfung wenig geeignet sein.

Tritt während der Bereitung Bakterienentwickelung in der Enzymlösung ein, so kann hierdurch das bakteriolytische Enzym zerstört werden. Das Ausbleiben der Agglutination macht uns darauf aufmerksam, dass die Lösung zur Schutzimpfung unbrauchbar ist. Namentlich im Hochsommer ist die Gefahr einer Verunreinigung durch Heubacillen u. dgl. während des Eindampfens im Vacuum und namentlich während des Digerirens nach dem Zusatz von Milz zur Enzymlösung eine sehr grosse. Wir setzen deshalb nach 1stündigem Erwärmen auf 37° C. 0·2 Procent Trikresol zur Mischung, digeriren dann noch weitere 2 Stunden bei dieser Temperatur und bewahren alsdann das fertige Präparat im Eisschrank auf. Hat man nicht einen zu grossen Ueberschuss von Milz zur Lösung des bakteriolytischen Enzyms zugesetzt, dann löst sich wie gesagt die gesammte zugesetzte Milzmasse bis auf kleine, aus dem Milzgerüste und der Kapsel stammende Reste von Bindegewebe, Gefässwandungen u. s. w. vollständig auf. Die Menge von aufgelöstem Milzeiweiss ist natürlich verschieden, je nach der Menge des vorhandenen bakteriolytischen Enzyms. Bei dieser Auflösung tritt das bakteriolytische Enzym in Verbindung mit Milzeiweiss und mit Kali bezw. kohlensaurem Kali. Dass letzteres der Fall ist, geht daraus hervor, dass die Mischung sofort nach Zusatz von Kali oder kohlensaurem Kali stärker alkalisch reagirt, als $^1/_2$ oder 1 Stunde später. Hat man Pyocyanase in Arbeit, so nimmt die Mischung unmittelbar nach Zusatz des Alkalis eine schön grüne oder grünblaue Farbe an, während



nach $^1/_2$ bis 1 Stunde entsprechend der Bindung von Alkali an die Eiweissverbindung der Pyocyanase die Farbe in braun übergeht.

Dass Alkali gebunden wird, wird auch dadurch bewiesen, dass das durch Alkohol gefällte Pyocyanase-Immunproteïdin ziemlich stark alkalisch reagirt. Es ist klar, dass entsprechend dem Obengesagten die Menge bakteriolytischen Enzyms und Immunproteïdins in den filtrirten, concentrirten und dialysirten Culturen, sowie auch die Qualität der Nucleasen- und Nucleasen-Immunproteïdine sehr verschieden sein kann. Je nach der Zusammensetzung der Nährlösung, je nach der verwendeten Cultur, der Menge der Einsaat, der Dauer der Entwickelung und entsprechend dem Verlauf des Darstellungsprocesses, bei welchem mancherlei Störungen vorkommen können, wird die heilende und immunisirende Wirkung der erzielten Produkte in weiten Grenzen variiren.

Wenn aber Alles in Ordnung verlaufen ist, dann wird ein Immunproteïdin erzielt werden, welches, in genügender Menge dem thierischen Organismus einverleibt, complete Immunität in dem Sinne bewirkt, dass z. B. eine in 40 Stunden tödtliche Anthraxinfection ohne jedwede Störung, ohne irgend welches Kranksein, ohne dass Körpertemperatur-Erhöhung eintritt, überwunden wird. Das richtig immunisirte Thier verhält sich trotz tödtlicher Infection fortdauernd ganz wie ein gesundes. Erhält Jemand bei Immunisirungsversuchen mit Immunproteïdin ein ungünstigeres Resultat, dann hat er kein Recht dies dem Verfahren zur Last zu legen und dieses zu discreditiren; er hat nur das Recht zu fragen, welche Fehler er gemacht hat und zuzusehen, wie er dieselben in Zukunft vermeiden kann.

Auch uns kommt es noch jetzt mitunter vor, dass trotz eines scheinbar normalen Verlaufes des Darstellungsprocesses ein Immunproteïdin erzielt wird, welches nicht den vollen Immunisirungswerth besitzt. Damit möchten wir dem vorbeugen, dass junge Bakteriologen, von irgend einem „Meister" beauftragt, an die Nachprüfung unserer Angaben herangehen und nachdem sie ein mehr oder weniger, oder gänzlich negatives Resultat erhalten haben, kurzer Hand unsere Lehre von der künstlichen Darstellung der immunisirenden Substanz über den Haufen werfen.

Ihnen rathen wir den Spruch zu beherzigen, der über der Wirthschaft „Zum guten Tropfen" des Pfarrers von Gries im Sulzthale steht:

> „Tadle nicht mich und das Meinige,
> Sieh' zuvor dich und das Deinige.
> Wann du kein Tadel findest an dir,
> Alsdann so komm' und tadle an mir."

Wir behaupten nur, ein Verfahren zur künstlichen Darstellung der immunisirenden Substanz gefunden zu haben, geben aber gerne zu, dass dasselbe noch in mancher Hinsicht (z. B. in Bezug auf die angewendeten Nährlösungen u. s. w.) der Verbesserung und der Vervollkommnung bedürftig ist.

3. Fällung der bakteriolytischen Enzyme und Nucleasen-Immunproteïdine und Ueberführung derselben in feste, trockene Pulverform.

Es wurde bereits erwähnt, dass die freien bakteriolytischen Enzyme aus den filtrirten, im Vacuum concentrirten, dialysirten Lösungen durch Eingiessen in die zehnfache Menge absoluten Alkohols (ev. unter Zusatz von Aether) gefällt, auf einer Nutsche abgesaugt und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknet werden können. Man erhält dann die bakteriolytischen Enzyme als feste, trockene Substanz, welche in beliebigen Gewichtsmengen dosirt und in destillirtem Wasser sehr leicht gelöst werden kann. Die in dieser Weise als trockenes Pulver gewonnenen bakteriolytischen Enzyme behalten ihre bakteriolytischen Wirkungen sehr lange Zeit. In dieser Beziehung haben wir beispielsweise festgestellt, dass die trockene Pyocyanase, welche in Form eines homogenen, grünen oder gelbgrünen Pulvers bei der Fällung erhalten wird, länger als zwei Jahre wirksam bleibt, so dass sie auch nach dieser langen Zeit zur Heilung des Milzbrandes u. s. w. verwendet werden kann.

Wir haben dagegen beobachtet, dass bei Aufbewahrung in trockenem Zustande einzelne Eigenschaften der bakteriolytischen Enzyme, wie z. B. die Sauerstoffentwickelung, bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd zur Pyocyanase sehr rasch verloren gehen können, während die proteolytische und bakteriolytische Wirkung erhalten bleibt.

Um jede Veränderung, namentlich die durch Oxydation bedingte, zu verhüten, hat Prof. Dr. Löw ein sehr wirksames Verfahren angegeben, welches im Zusatz von reinem Dextrin in der Menge von 1 bis 10 ^{grm} zu 100 ^{ccm} der concentrirten Enzymlösung besteht. Dasselbe wird durch Schütteln gelöst und dann erst durch Eingiessen in die zehnfache Menge starken Alkohols gefällt. Das Dextrin fällt, ebenso wie das bakteriolytische Enzym, in feinsten Flocken gleichzeitig mit diesem aus und hüllt dasselbe allseitig ein, so dass es nach dem Trocknen vor Oxydation u. s. w. geschützt ist. Der Zusatz von Dextrin zur Enzymlösung vor der Fällung hat aber auch noch andere Vortheile. Ist der Gehalt der Lösung an bakteriolytischem Enzym ein sehr geringer, dann fällt dasselbe, wenn kein Dextrin zugesetzt wird, oft als harzähnlicher, zäher, fest an den Glaswandungen



haftender Niederschlag aus und es ist schwer, die geringe Menge desselben ohne grossen Verlust zu sammeln, zumal auch in feuchtem Zustande sehr rasch Oxydation erfolgt. Löst man dagegen in solchen Fällen 2 bis 5 Procent Dextrin in der Enzymlösung, dann hüllt letzteres das bakteriolytische Enzym allseitig ein und man erhält dasselbe als feinflockigen Niederschlag und nach dem Trocknen in Form eines homogenen Pulvers.

Genau in der gleichen Weise wie die freien bakteriolytischen Enzyme werden auch die Nucleasen-Immunproteïdine mit oder ohne Dextrinzusatz durch Eingiessen der Lösung in die zehnfache Menge Alkohol gefällt.

Auch die gefällten und in trockenem Zustande aufbewahrten Immunproteïdine lösen sich sehr leicht in destillirtem Wasser und können zu Heil- und Schutzimpfungszwecken beliebig dosirt werden. Darin liegt ebenfalls ein grosser Vorzug gegenüber der Anwendung des Heilserums.



[Aus dem Laboratorium der II. medicinischen Klinik zu Neapel.]
(Director: Prof. Cardarelli.)

Ueber das Wachsthum der Influenzabacillen auf hämoglobinfreien Nährböden.

Von

Dr. **Arnold Cantani jun.**,
Preforator.

In einer früheren Mittheilung[1] wurde von mir auf die Möglichkeit mehrfach hingewiesen, die Influenzabacillen auch auf hämoglobinfreien Nährböden züchten zu können. Es war mir schon damals thatsächlich gelungen, üppige Influenzaculturen auf Agar zu gewinnen, der mit reinem Thiersperma bestrichen worden war; da irgend eine Beimischung des Spermas mit Blut in meinen Versuchen ganz auszuschliessen war, galt nun dieser Befund schon als eine sicher bewiesene Thatsache.

Bei den oben citirten Experimenten wurde aber auch über einige Versuche berichtet, die mit anderen thierischen Flüssigkeiten angestellt worden waren. Es gelang mir schon damals die Züchtung der Influenzabacillen auch in Bouillon, der eine kleine Menge von Ascitesserum zugesetzt worden war. Dieser Befund wurde später auch von Elmassian[2] und Rosenthal[3] ganz unabhängig von meinen Experimenten, die ihnen nicht bekannt waren, bestätigt.

Es blieb aber noch übrig, die interessante Frage zu entscheiden, welchen gemeinschaftlichen Bestandtheilen des Blutes, des Spermas und

---

[1] Zur Verwendung des Sperma als Nährbodenzusatz. *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXII.

[2] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.

[3] *Société de biologie.* 17. März 1900.



auch des Serums die Eigenschaft zukam, das Wachsthum der Influenzabacillen zu befördern; und da die von mir mit nucleïn- und lecithinhaltigen Nährböden angestellten Versuche alle negativ ausfielen, glaubte ich damals als höchst wahrscheinlich, dass die wachsthumsfördernde Eigenschaft von einem Albuminkörper abhängig sei, der im Blute und im Sperma enthalten ist.

Ich hielt es nun als nicht uninteressant, dieses Studium noch weiter fortzusetzen; vor Allem wollte ich mich überzeugen, ob noch andere thierische und ev. menschliche Flüssigkeiten dieselben Eigenschaften besitzen betreffs des Wachsthums der Influenzabacillen; in einer weiteren Experimentenreihe wurde von mir mit verschiedenen Substanzen versucht, die als Hauptbestandtheile der betreffenden Flüssigkeiten anzusehen waren.

Und da es mir endlich ganz zufälliger Weise gelang, als Nährböden für die Influenzabacillen auch einige Bakterien selbst zu verwenden, die, dem Agar zugesetzt, ein ziemlich üppiges Wachsthum der Influenzabacillen gestatteten, wurden von mir auch in dieser Richtung zahlreiche Experimente angestellt, von denen einige mir manche interessante Resultate über die Biologie der Influenzabacillen ergaben.

Im Folgenden wird nun so kurz als möglich über alle Experimente berichtet, die ich angestellt habe.

Ich verwendete bei meinen Versuchen zuerst Blutserum, welches auch spektroskopisch keine Spur von Hämoglobin enthielt, ferner verschiedene an Albumin reiche Transudate, die ebenfalls nicht bluthaltig waren.

Diese Flüssigkeiten wurden den üblichen Nährböden in verschiedenen Mengen hinzugefügt, oft in ganz steriler Weise. Wenn die Sterilisirung nicht zu vermeiden war, versuchte ich, sie bei nicht zu hoher Temperatur (70°) wiederholt auszuführen.

Die Culturen, die ich für meine Experimente brauchte, stammten aus drei typisch verlaufenen Influenzafällen und waren vor dem Gebrauch öfters auf ihre charakteristischen Eigenschaften geprüft. Sie waren alle auf Blutagar nach Voges cultivirt; da nach dieser Methode das Blut mit dem verflüssigten Agar direct vermischt wird, so ist bei den Abimpfungen auf anderen nicht bluthaltigen Nährmedien jede Transportirung von Blutspuren ausgeschlossen.

In reinem menschlichen Blutserum wuchsen die Influenzabacillen sehr spärlich; wenn man aber nach der Wertheim'schen Methode etwas Serum der gewöhnlichen Peptonbouillon zusetzte, fiel die Impfung von Influenza in diesen Röhrchen positiv aus. Schon nach 24 Stunden bemerkte man, dass die Bouillon etwas trübe geworden war, mit ganz kleinen Flöckchen



auf den Wandungen und auf dem Grunde des Röhrchens, die mikroskopisch und culturell aus Influenzabacillen zu bestehen sich erwiesen. Das Wachsthum der Stäbchen, welches nach 24 Stunden ein nicht sehr üppiges war, erreichte bis zum dritten Tage seinen Höhepunkt, um dann stationär zu bleiben. Zu dieser Zeit war die Trübung der Bouillon eine ziemlich intensive; es liess sich aber immer eine prägnante Flöckchenbildung bemerken, welche als eine Agglutinationserscheinung des in ziemlich grosser Menge der Bouillon zugesetzten Serums ($^1/_3$ Serum — $^2/_3$ Bouillon) aufzufassen ist. Menschliches wie thierisches Normalserum besitzt in der That, wie aus einigen von mir angestellten Experimenten hervorgeht,[1] ein ziemlich hohes Agglutinationsvermögen den Influenzabacillen gegenüber.

Wenn man aber in denselben Verhältnissen das Serum mit dem Agar vermischte, waren die Resultate viel weniger ausgesprochen, als mit der Serumbouillon. Die Influenzabacillen wuchsen auf dem Serumagar sehr spärlich; oft waren die ganz kleinen Colonieen nach 48 Stunden kaum zu sehen, oft blieben die Abimpfungen ganz steril.

Mit Ascitesflüssigkeit waren die Verhältnisse dieselben; bei Zusatz der Ascitesflüssigkeit zur Bouillon waren die Resultate positiv; bei Zusatz zum Agar dagegen blieben die Röhrchen fast immer steril.

Mit dieser Ascitesflüssigkeit wurde von mir ein Nährboden nach der Wassermann'schen Angabe mit Nutrosezusatz hergestellt; es gelang mir ziemlich gut, eine beim Sieden nicht gerinnbare Flüssigkeit zu bereiten; einerseits blieb aber der Nährboden ziemlich trübe; die Influenzabacillen wuchsen andererseits gar nicht auf diesem so bereiteten Material.

Durch fortdauernde Erhitzung während zwei Tagen bei 65° gelang es mir, das Ascitesserum zu einer gallertartigen Flüssigkeit[2] zu konzentriren, die bei der Hitze gar nicht mehr gerann. Dieses eingedampfte Serum konnte der Bouillon und dem Agar in beliebiger Menge zugesetzt werden, die Influenza kam aber darauf gar nicht fort.

Auf koagulirtem Kuhserum fielen die Züchtungsversuche fast immer negativ aus.

Ich ging nun zu anderen eiweisshaltigen und eiweissfreien thierischen Flüssigkeiten über; Milch erwies sich als ungeeignet, ebenfalls stark albuminreicher Urin. Die Beimischung von bei 100° sterilisirtem Ei zu dem Agar blieb auch ohne Erfolg für das Wachsthum der Influenzastäbchen.

Endlich wurde von mir auch ein Zusatz von Galle experimentirt; Meerschweinchen- und Kaninchengalle beförderte in keiner Weise das

[1] *Riforma medica.* 1900. Nr. 80—82.

[2] *Ebenda.* 1899. Nr. 68—70.



Wachsthum der Influenzabacillen, wenn sie dem einfachen Agar zugesetzt wurde; mit menschlicher Galle dagegen erreichte ich ein sehr gutes Wachsthum auf Agar. Die von mir gebrauchte Galle stammte aus einem an Aneurisma plötzlich gestorbenen Manne; sie hatte eine schöne grüne Farbe, war aber etwas zäher und dicker als normal; bei einer näheren Untersuchung erwies sie sich als stark mucinhaltig, aber eiweissfrei.

Auf Gallenagar bildeten die Influenzacolonieen einen ganz zarten Rasen von confluirenden, grünschimmernden Tröpfchen. Die mikroskopische Untersuchung von diesen Colonieen war höchst interessant, die Bacillen hatten auf diesem Nährboden ganz und gar ihre Form eingebüsst; sie waren wie aufgebläht, sahen alle dicker und länger aus, hie und da hatten einige die Form von grossen Kokken angenommen; es waren zahlreiche Filamente zu sehen, einige Bacillen waren auch auf einer Seite gekrümmt. Ich hatte in der That die echte Form der von Pfeiffer beschriebenen Pseudoinfluenzabacillen vor mir.

Anfangs zweifelte ich, dass es sich um echte Influenzabacillen handeln konnte; durch weitere Züchtungsversuche auf normalem und auf Blutagar konnte ich aber jeden Zweifel ausschliessen, dass es sich nicht um echte Influenzabacillen handelte. Es gelang mir übrigens, an verschiedenen Stämmen von Influenza dieselben Erscheinungen zu beobachten; es genügte oft, einen Tropfen dieser zähen, klebrigen Menschengalle auch dem gewöhnlichen Blutagar zuzusetzen, um dieselben degenerativen Formen der Influenzabacillen hervorzurufen; bei wiederholten Abimpfungen von diesen Culturen auf normalen Blutagar nahmen die Stäbchen wieder ihre alte Form an.

Ueber die Bedeutung von diesem Befunde bei der Frage der Pseudoinfluenzabacillen wurde von mir schon in einer anderen Arbeit[1] mehrfach hingewiesen. Dieselben degenerativen Formen sind mir übrigens öfters vorgekommen, wenn ich Influenzabacillen auf ungeeigneten Nährböden oder bei ungünstigen Verhältnissen (hohe Temperatur) züchtete. Ich glaube deshalb, dass die von Pfeiffer als Pseudoinfluenza beschriebenen Bacillen mit den echten ganz und gar identisch sind, was übrigens auch von anderen Autoren (Pielicke, Lindenthal, Grassberger) betont wird.

Ausser dem Sperma kann man aus dem Vorstehenden ersehen, dass es andere Substanzen giebt, auf welchen sich die Influenzabacillen mehr oder weniger üppig entwickeln können, ohne dass die Gegenwart von Hämoglobin im Mindesten nöthig sei, nämlich: Blutserum, Ascitesserum, Menschengalle.

[1] *Riforma medica.* 1900. Nr. 80—82.



In einer zweiten Versuchsreihe fügte ich nun den gewöhnlichen Nährböden Substanzen hinzu, die vermuthlich als die Hauptbestandtheile der angewendeten organischen Flüssigkeiten anzusehen waren. Ich benutzte Eiweisskörper der verschiedensten Gruppen, die theilweise von mir selbst bereitet, theilweise von der Firma Merk direct bezogen wurden, und nämlich Eieralbumin, Eidotter, Serumalbumin, Hämoglobin, Oxyhämoglobin, Hämatin Nencki, Globulin aus Blutfibrin, Serumglobulin, Cholestearin, Mucin aus Galle, Proteïn und ferner Protalbumose, Disalbumose, Deuteralbumose, Hämalbumose, Protagon.

Es wurden in der Regel 10 cgrm von je einer von diesen Substanzen einem verflüssigten Agarröhrchen beigemischt; die Sterilisirung wurde in der Mehrzahl der Fälle dadurch bewirkt, dass die Röhrchen während einigen Minuten auf dem Bunsenbrenner erhitzt wurden; die discontinuirliche Sterilisirung erwies sich als unpraktisch. Oft war die Vertheilung der Substanz im flüssigen Agar eine recht schwierige; ich achtete aber viel darauf, die Agarröhrchen nur dann rasch erstarren zu lassen, wenn die Vertheilung der Substanz annähernd gleichmässig war. Nebenbei wurden immer zahlreiche Controlröhrchen mit normalem Agar geimpft. Tabelle I erlaubt eine rasche und genaue Orientirung über die Resultate.

Tabelle I.

Substanz	Wachsthum	Substanz	Wachsthum
1. Eieralbumin coagulirt	+	12. Cholestearin	+ +
2. desgl. mit Agar gemischt	0	13. Mucin aus Galle	+ + +
3. desgl. auf Agar gestr.	+	14. Proteïn	0
4. Eidotter coagulirt	+	15. Protalbumose	+ +
5. desgl. mit Agar gemischt	+	16. Emalbumose	+ +
6. Serumalbumin	+ + +	17. Deuteralbumose	0
7. Hämoglobin	+ + + +	18. Disalbumose	+ +
8. Oxyhämoglobin	+ + + + +	19. Protagon	+ +
9. Globulin aus Blut	+ + + +	20. Nutrose	0
10. desgl. aus Serum	+ + +	21. Somatose	0
11. Hämatin	0		

Wo keine nähere Angabe ist, versteht sich, dass die Substanz mit Agar in der vorher beschriebenen Weise gemischt ist.

Das Optimum des Wachsthums wird durch das Zeichen + + + + + ausgedrückt.

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht, üben die verschiedenen Albuminkörper einen ziemlich günstigen Einfluss auf das Wachsthum der Influenzabacillen aus. Schon auf reinem coagulirten Eieralbumin war in meinen



Experimenten ein spärliches Wachsthum zu bemerken; Eidotter erwies sich, mit Agar gemischt, als wenig begünstigend (Capaldi,[1] Nastiukoff[2]); auch im coagulirten Zustande konnte man etwas Wachsthum wahrnehmen, indem man auf der Oberfläche der in einer Petrischale coagulirten Substanz einen ganz zarten Rasen von Bacillen bemerken konnte. Auf Serumalbumin war das Wachsthum dagegen viel deutlicher; das reine Hämoglobin und das Oxyhämoglobin besonders gaben, wie natürlich, die besten Resultate. Die Experimente, die ich aber mit den einzelnen Bestandtheilen des Hämoglobins, Hämatins und Globulins anstellte, bewiesen, dass das Hämatin sich vollständig gleichgültig verhielt, das Globulin dagegen das Wachsthum der Influenzabacillen erheblich förderte. Man kann darum mit grosser Wahrscheinlichkeit annehmen, dass das Globulin die active Substanz im Hämoglobin sei, die das Wachsthum der Influenzabacillen bewirkt; wir können uns das positive Wachsthum der Influenzabacillen im Serum und im Sperma dadurch erklären, dass auch in diesen letzten Flüssigkeiten Globulin enthalten ist. Ferner gebühren auch dem Serumalbumin wachsthumsfördernde Eigenschaften.

Ausser dem Globulin und dem Serumalbumin können noch andere Substanzen, wie aus Tabelle I ersichtlich, das Wachsthum der Influenzabacillen bewirken; auch in cholestearinhaltigem Agar bemerkte man in der That ein spärliches Wachsthum der Influenzakeime. Mit Mucin, welches aus der Galle stammte, wurden weitere Experimente angestellt und alle mit positivem Resultate; es war uns so die Möglichkeit gegeben, die wachsthumsfördernde Eigenschaft der Galle erklären zu können; da die auf mucinhaltigen Nährböden gezüchteten Bacillen keine degenerativen Formen erblicken lassen, ist diese Erscheinung mit grosser Wahrscheinlichkeit den in der Galle sich findenden Glykochol- und Taurocholsäuren zuzuschreiben.

Ferner besitzen auch Protalbumose, Disalbumose, Hämalbumose wachsthumsfördernde Eigenschaften.

Von dem positiven Ausfallen dieser letzten Experimente ermuthigt, versuchte ich, durch künstliche Digestion aus dem Blute selbst einen Nährboden zu gewinnen, der sich durch seine Uncoagulirbarkeit praktisch gut verwenden liess. Eine ziemlich grosse Menge Blut wurde daher bei Zusatz von Pepsin und Salzsäure einige Tage im Brutschranke gehalten, nachher filtrirt, schwach alkalisch gemacht, einige Minuten gekocht und wieder abfiltrirt. Ich erhielt eine goldgelbe, transparente Flüssigkeit, welche beim Kochen nicht mehr gerann und eine sehr schöne Biuret-

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XX. Nr. 22–23.
[2] *Ebenda.* Bd. XXI. S. 474.



reaction ergab. Bei Zusatz einer kleinen Menge von dieser Flüssigkeit blieb der Agar oder die Bouillon auch beim Kochen vollkommen klar; das Wachstum der Influenzakeime auf diesem so hergestellten Nährboden war ein ausgezeichnetes. Praktisch liess sich aber dieses Material gar nicht verwerthen, denn schon bei Aufbewahrung nach einigen Tagen verlor es ganz und gar die Eigenschaft, das Wachsthum der Influenzabacillen zu begünstigen.

Bakteriennährböden.

Ueber die Möglichkeit, durch die gleichzeitige Impfung von verschiedenen Bakterien auf demselben Nährboden das Wachsthum des einen auf Kosten des anderen Mikroorganismus zu begünstigen, wird, so viel ich weiss, von wenigen Autoren berichtet.

So hat Buchner[1] gefunden, dass der Choleravibrio in einer sterilisirten Nährlösung, welche bereits als Nährbodensubstrat für Cholera gedient hat, ein ganz besonders üppiges Wachsthum zeigte; eine ähnliche Begünstigung des Wachsthums will auch Salkowski[2] bei Wasserbakterien beobachtet haben. Der Saccharomyces der Ingwerbierhefe gährt nach Ward[3] in Symbiose mit einem anaëroben „Bacterium vermicosum“ viel kräftiger. Turrò[4] will ferner gefunden haben, dass Streptokokken ganz besonders üppig in nicht sterilisirten lebenden Cholera- und Pyocyaneus-, sowie in Milzbrandculturen wachsen. Von anderen Autoren (Roux und Yersin,[5] Schneider[6] u. s. w.) wurde eine Begünstigung des Wachsthums von Diphtheriebacillen bei Anwesenheit von Streptokokken im selben Nährboden bemerkt. Endlich seien noch die Studien von Grassberger[7] citirt, der bei der Isolirung von Influenza aus Sputa auf Blutagarplatten ein üppigeres Wachsthum der Influenzakeime in der Nähe von Staphylococcuscolonieen bemerkte.

In allen den bisher citirten Experimenten handelte es sich einfach um eine Begünstigung des einen oder des anderen Bakteriums durch gleichzeitige Impfung von anderen Mikroorganismen; einen Nährboden aber zu fabriciren, der ausschliesslich durch Bakterienzusatz das Wachsthum von einem Mikroorganismus befördert, der sonst auf ihm gar

[1] Ref. in Flügge, *Die Mikroorganismen.* Bd. I. S. 140.
[2] *Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften.* 1892. S. 305.
[3] Ref. in Flügge, *Die Mikroorganismen.*
[4] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVII. S. 868.
[5] *Annales de l'Institut Pasteur.* T. IV.
[6] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XII. S. 290.
[7] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 453.



nicht fortkommen würde, wurde aber von keinem der erstgenannten Autoren versucht.

Sehr schöne und beweiskräftige Experimente wurden in dieser Richtung, so viel ich weiss, nur von Frosch[1] angestellt, der bei der Frage der Reinzüchtung der Amöben als eine ausschliessliche Bedingung für ihr Fortkommen auf gewöhnlichem Agar die Gegenwart von anderen Bakterien als nöthig bewies. Die Amöben kamen in der That auf gewöhnlichem Agar gar nicht fort, wenn sie nicht mit anderen Bakterien vergesellschaftet waren; nicht alle Bakterien erwiesen sich im selben Maasse wachsthumsfördernd; eine Bakterienart wurde von den Amöben ganz deutlich bevorzugt. Nach Frosch's Versuchen ist das Amöbenwachsthum nicht vom Stoffwechselprodukte der Bakterien oder von irgend einer Modificirung des Nährbodens, sondern von den in den Bakterienleibern enthaltenen Stoffen selbst abhängig; dem erstgenannten Autor ist es aber nicht gelungen, mit sterilisirtem Bakterienzusatz einen für die Amöben günstigen Nährboden zu fabriciren.

Bei meinen Versuchen über Influenzanährböden wurden nun von mir auch einige Experimente in dieser Richtung angestellt. Man konnte in der That mit keinem anderen Mikroben den begünstigenden Einfluss von anderen Bakterien als Nährbodenzusatz so gut studiren, wie mit den Influenzabacillen, welche auf einfachem Agar gar nicht fortkommen.

Zu dieser Idee kam ich übrigens ganz zufälliger Weise; ich beschäftigte mich damals gerade mit Gonokokkennährböden und hatte gefunden, dass diese Bakterien auf einer Mischung von Blut und Glycerin ($^1/_3$ Blut, $^2/_3$ Glycerin; davon wurden einige Tropfen dem Agar oder der Bouillon zugesetzt) sehr gut gedeihen.[2] Da ich auf diesem so hergestellten Nährboden auch die Züchtung von Influenzabacillen versuchen wollte, impfte ich einige von diesen Agarröhrchen mit Influenza, dieses Mal aber mit ganz negativem Resultate. Ich bewahrte nun diese steril gebliebene Röhrchen 6 bis 7 Tage und benutzte sie zum zweiten Mal zur Abimpfung einer Gonokokkencultur. Nach 24 Stunden bemerkte ich ein sehr üppiges Wachsthum darauf; zu meinem Erstaunen aber hatten sich statt der Gonokokken die Influenzabacillen darauf entwickelt, die ich vor einer Woche besät hatte; von den Gonokokken waren mikroskopisch nur noch einige seltene isolirte Glieder hier und da, zwischen ungeheuer dichten Haufen von Influenzabacillen nachzuweisen. Die Abimpfung von dieser Influenzacultur auf einfachem Agar fiel negativ aus, auf demselben Blutglycerinnährboden aber ohne Gonokokkenzusatz waren wie früher die Abimpfungen von Influenza erfolglos.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXI. S. 926.

[2] Contributo allo studio del Gonococco. *Riforma medica.* 1899. p. 68–70.



Dieselben Versuche wurden von mir dann auch auf einfachem Agar und mit fast gleichen Resultaten wiederholt; wenn man die Agarröhrchen gleichzeitig mit Gonokokken in ziemlich grosser Menge und Influenza impfte, so bemerkte man nach 24 Stunden ein üppiges Wachsthum der Influenzabacillen; diese entwickelten sich aber nur da, wo sich Gonokokkenmaterial fand, wo dies fehlte oder spärlich war, war auch das Influenzawachsthum ein spärliches oder blieb ganz aus.

Auf Ascitesagar hatte man noch bessere Resultate als auf einfachem Agar; auf Blutagar waren, wie natürlich, die Resultate viel brillanter, obwohl nicht so beweiskräftig wie auf den anderen vorher citirten Nährböden.

Wie aus diesen Experimenten hervorgeht, äussert sich die begünstigende Wirkung der Gonokokken auf das Wachsthum der Influenzabacillen in constanter Weise nicht nur, wenn man einen für Influenza und Gonokokken ungünstigen Nährboden wählte (einfaches Agar), sondern auch, wenn man einen für Influenza ungünstiges und für Gonokokken günstiges Nährsubstrat anwendete (Blutglycerin-Ascitesagar). Die Influenzabacillen mit anderen Worten überwältigten die Gonokokkenentwickelung auch auf einem für diese letzteren sehr günstigen Nährboden.

Bei diesen so übereinstimmenden Experimenten stellte sich nun natürlich die Frage, wie weit auch die anderen Bakterien das Wachsthum der Influenzabacillen beeinflussen konnten. — Es wurde von mir zu diesem Zwecke eine grosse Reihe von Experimenten mit allen möglichen Bakterien angestellt, die ich eben zur Hand hatte. Ich wählte zuerst nicht pathogene Keime, die aus der Laboratoriumluft, aus Sputa u. s. w. stammten; es wurden gerade diejenigen Bakterien nicht ohne Acht gelassen, die in den Influenzasputa am häufigsten vorkommen; zuletzt wurden fast alle pathogene Bakterien zu den Versuchen verwendet.

Die ersten Experimentenreihen wurden mit lebendigen Bakterien angestellt; bei diesen Versuchen gelang es mir nicht ohne Schwierigkeit, das gleichzeitige Wachsthum von Influenza- und anderen Bakterien auf demselben Nährboden zu erreichen; viele von den angewendeten Bakterien überwucherten oft die zarten Influenzacolonieen, wenn sie zusammen mit diesen geimpft wurden, in solcher Weise, dass nichts mehr von Influenza zu sehen war. Ich wurde daher gezwungen, das Plattenverfahren so anzuwenden, dass ich das gleichzeitige Wachsthum von den beiden Bakterienarten ziemlich gut beobachten konnte. Um dies zu erhalten, verfuhr ich folgender Weise: die mit Agar, mit Ascites- oder mit Blutglycerinagar begossenen Platten (für meine Experimente wählte ich diese drei verschiedenen Nährböden) wurden 24 Stunden lang steril gehalten, um das Condenswasser verdunsten zu lassen. Wenn die Platten ganz trocken geworden waren, impfte ich sie alle mit einer gleichen Menge von Influenza



(in der Regel zwei Normalösen einer in 1 ccm steriles Wasser aufgeschwemmten Cultur). Dies Influenzamaterial wurde möglichst gleich auf der Oberfläche der Platte vertheilt. Eine halbe Stunde später impfte ich dieselbe Platte wieder mit dem Bakterium, das ich eben ausgewählt hatte; die Impfung aber geschah dieses Mal nicht auf der ganzen Platte, sondern in zwei möglichst dünnen gekreuzten Strichen. Die Platten wurden nachher im Brütschrank bei 37° gehalten und nach 20, 24 und 48 Stunden sorgfältig untersucht; das Wachsthum der Influenzacolonieen wurde besonders am Rande und in der Dicke der Bakterienstreifen streng überwacht; von den verdächtigen Influenzacolonieen wurden immer Präparate angefertigt und Controlröhrchen abgeimpft. Bei jeder Experimentenreihe wurden Controlplatten mit Influenza aber ohne Bakterienzusatz angestellt, um das Wachsthum dieser Bacillen auf den gebrauchten Nährböden genauer überwachen zu können.

Tabelle II.
Platten mit einfachem Agar.

Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.	Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.
Kleine Diplobacillen aus Influenzasputum	0	Tuberkelbacillen	0
Sarcine aus Influenzasputum	0	Diplok. Fraenkel aus Infl.-Sp.	0
Blastomyceten aus Infl.-Sp.	0	Streptokokken „ „	0
Bact. *d* aus Influenzasputum	0	„ a. Peritonitis	0
„ *c* „ „	0	Gonokokken	+ + +
„ *a* „ „	0	Staphylococcus aureus	0
„ *h* „ „	0	„ albus	0
„ *i* „ „	0	Pyocyaneus	0
Schwarze Hefe	0	Cholera	0
Rosa-Hefe	0	Typhus	0
Gelbe Sarcine aus Luft	0	Milzbrand	0
Grosse Diplok. aus Infl.-Sp.	+ +	Diphtheritis	+ + +
Grüne Bacillen „ „	+	Pseudodiphtheritis	0
Grosse gelbe Kokken a. Luft	+ +	Coli	0

Das Optimum des Wachsthums ist mit + + + + + bezeichnet.

Wie aus der Tabelle II hervorgeht, haben sich nur wenige Bakterien als wachsthumsfördernd für die Influenzabacillen bewährt, wenn sie in lebendigem Zustande zusammen mit den Influenzabacillen auf einfachem Agar geimpft wurden; auf Diphtheritis- und Gonokokkenplatten hatte man die besten Resultate; man konnte in der That ein sicheres Wachsthum



der Influenzacolonieen ganz dicht am Rande und in der Schicht selbst der ausgestrichenen Bakterien beobachten. Bei Diphtheritis waren die Resultate nach 48 Stunden noch prägnanter; man bemerkte nicht nur am Rande des Diphtheriestriches, sondern auch in der Schicht selbst ganz kleine punktförmige Colonieen, die sich von dem übrigen homogenen Diphtherierasen emporhoben.

Diese Resultate wurden aber viel deutlicher, wenn man ein stark albuminreiches Nährsubstrat für die Bereitung der Platten anwendete. (Vgl. Tabelle III.)

Tabelle III.

Wachsthum auf Ascitesagar.

Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.	Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.
Streptokokken aus Infl.-Sput.	+ +	Milzbrand	+
Diplok. Fraenkel a. Infl.-Sp.	0	Staphylococcus aureus	+ +
Diplokokken aus Sputum	0	Staphylococcus albus	+ +
Gonokokken	+ + + + +	Tuberkelbacillen	– +
Diphtheritis	+ + + +		

Die Controlplatten, einfach mit Influenzabacillen geimpft, blieben steril. Das Optimum des Wachsthums ist mit + + + + + bezeichnet.

Schon anders gestaltet sich die Sache, wenn man einen Nährboden verwendet, der reich an Albumin ist, jedoch sehr wenig für das Wachsthum der Influenzabacillen passt. Die Influenzabacillen kommen trotzdem zur Entwickelung, wenn sie auf Ascitesagar in Gemeinschaft mit anderen Bakterien geimpft werden. Auch hier wie in der vorigen Tabelle machen sich grosse Unterschiede betreffs der Wachsthumsbegünstigung je nach der verwendeten Bakterienart bemerkbar.

Noch günstiger gestalten sich die Experimente, die in der Tabelle IV zusammengefasst sind.

Bei diesen letzten Experimenten sind die Resultate weit günstiger als in den anderen zwei Tabellen; die Ursache ist aber leicht zu erklären, wenn man in Betracht zieht, dass wir ein Blutsubstrat angewendet haben, bei welchem nur durch Zusatz von Glycerin die Entwickelung der Influenzabacillen gehemmt wird. Die Influenzacolonieen waren in Gemeinschaft von Gonokokken und Diphteritis besonders schön entwickelt; man bemerkte dicht am Rande dieser Bakterien ganz schöne Riesencolonieen. Die vom Bakterienstriche weiter entfernten Influenzacolonieen sahen dagegen immer kümmerlicher aus, bis man bei einer Entfernung von 1 ccm bis zu $1^1/_2$ ccm kein Wachsthum von Influenza mit blossem Auge mehr bemerken konnte.



Tabelle IV.
Wachsthum auf Blutglycerinagar.

Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.	Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.
Grosse Diplokokken aus Influenzasputum	+ + + + +	Gonokokken	+ + + + +
		Staphylococcus albus	+ + +
Grüne Bacillen desgl.	+ + +	Staphylococcus aureus	+ + +
Bacterium *d* desgl.	+ + +	Tuberkelbacillen	+
„ *i* „	+	Diphtheritis	+ + + + +
„ *a* „	+ + +	Pseudodiphtheritis	+ +
„ *h* „	+ + +	Typhus	+
„ *i* „	+	Milzbrand	+
Diplokokken „	+	Coli	+
Streptokokken „	+ + +	Pyocyaneus	+ + +

Die Controlplatten bei den 7 mal wiederholten Versuchen haben nur ein Mal und erst nach 48 Stunden ein ganz kümmerliches Wachsthum von Influenzabacillen bemerken lassen. Das Optimum des Wachsthums ist mit + + + + + bezeichnet.

Wenn man nun die Resultate dieser drei letzten Tabellen kurz zusammenfasst, so kann man durchaus nicht leugnen, dass es auch andere Bakterien giebt, welche, wie die Gonokokken, wachsthumsfördernde Eigenschaften für die Influenzakeime besitzen, jedoch mit bemerkenswerthen Unterschieden.

Zu den Bakterien, die sich am günstigsten bewiesen haben, sollen in erste Reihe die Gonokokken und die Diphtheritisbacillen gestellt werden, die auch auf einfachem Agar mit den Influenzabacillen zusammen geimpft, das Wachsthum dieser letzteren sehr gut befördern; es kommen dann in zweiter Reihe die Staphylokokken, einige nicht virulente Diplokokken aus Sputum, die auf Ascitesagar eine gute Wirkung ausübten. Keine besondere Wirkung haben in unseren Experimenten die Fraenkel'schen Diplokokken, die Streptokokken und die Tuberkelbacillen entfaltet; man könnte vielleicht bei den zwei ersten Mikroben eher eine Begünstigung derselben seitens der Influenzabacillen annehmen.

Bei diesen ziemlich übereinstimmenden Experimenten stellte ich mir die Frage, wodurch das Wachsthum der Influenzabacillen bedingt sei: von einer durch die Bakterien verursachten Veränderung der gebrauchten Nährböden, oder von Nährstoffen, die im Leibe der Bakterien selbst enthalten sind? Es war endlich noch die Frage einer Symbiose in's Auge zu fassen.



Dieses Mal gelang es mir aber durchaus nicht schwierig eine Antwort auf diese Frage zu finden. Ich sterilisirte ganz einfach die verschiedenen Bakterien und setzte sie dem verflüssigten und bei 40° abgekühlten Agar zu.

Die verschiedenen Bakterien wurden alle in der gleichen Weise sterilisirt, indem ich sie einer Temperatur von 60° 3 Stunden lang aussetzte; diese Zeitdauer war für die Sterilisirung der meisten Bakterien genügend. Die Sterilisirung bei 100° wurde von mir auch manchmal versucht; ich bekam aber lange nicht so gute Resultate, wie bei einer Temperatur von 60°. Sehr achtete ich darauf, die so hergestellten Röhrchen an demselben Tage zu impfen; sehr oft geschah es, dass schon nach 24 Stunden dasselbe Material, welches in früheren Experimenten positive Resultate gegeben hatte, nicht mehr im Stande war, nur eine einzige Influenzacolonie zur Entwickelung zu bringen, ganz in analoger Weise, wie mir mit dem mit digerirten Blute bereiteten Nährboden geschah. Dieses Phänomen ist übrigens nicht schwer zu erklären, wenn man an die grosse Labilität der im Zellleibe enthaltenen Substanzen denkt. Mannigfaltige Veränderungen sind übrigens von allen Forschern in der Vitalität, in der Virulenz und in der Toxicität von vielen Bakterien schon nach Aufbewahrung derselben während kurzer Zeit beobachtet worden.

Was die Menge der mit dem verflüssigten Agar vermischten Culturen anbetrifft, so ist hier zu bemerken, dass immer unter gleichen Verhältnissen gearbeitet wurde. In der Regel wurde eine ganze Agarcultur des Bakterienmaterials in 1 ccm Wasser aufgeschwemmt und, nach Sterilisirung, dem verflüssigten Agar zugesetzt. Von den nicht üppig wachsenden Bakterien (Diplo-, Streptokokken u. s. w.) wurden je nach ihrer Wachsthumskraft 4 bis 8 Culturen angewendet. Es wurde stets mit gleichen Mengen Influenzabacillen geimpft.

Die Resultate der obigen Versuche werden der Kürze wegen in Tabellen zusammengefasst; sie werden in solche eingetheilt, die mit nicht pathogenen Keimen und in solche, die mit pathogenen Mikroorganismen ausgeführt sind. (Vgl. Tabelle V u. VI.)

Wie aus diesen zwei Tabellen V und VI zu ersehen ist, haben viele von den pathogenen, sowie von den nicht pathogenen Bakterien und unter diesen auch einige Hefearten wachsthumsfördernde Eigenschaften für die Influenzabacillen, wenn sie in sterilisirtem Zustande den gewöhnlichen Nährböden beigemischt werden. Auch hier, wie bei den Versuchen mit lebendigen Keimen, üben nicht alle Bakterien denselben Einfluss auf das Wachsthum der Influenzabacillen; diese Unterschiede werden wir später zu erklären versuchen.



Tabelle V.

Versuche mit nicht pathogenen Keimen.

Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.	Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.
Diplobacillen aus Luft	0	Grosse Diplok. a. Blen.-Eiter	+ + +
Grosse Kokken aus Luft	0	Gelbe Sarcine aus Luft	+ + +
Kleine Diplobac. a. Infl.-Sp.	0	Grosse gelbe Kokken desgl.	+ + + + +
Sarcine aus Influenza-Sputa	0	Micrococcus roseus desgl.	+ + +
Blastomyceten desgl.	0	Bacillen aus Wasser	0
Grosse Diplokokken desgl.	+ + + +	Kokken „ „	0
Grüner Bacillus desgl.	+ + + +	Pseudodiphtherie aus einem weichen Schanker	+ + +
Diplobacillen aus Blenorrhagie-Eiter	+ + + +	Schwarze Hefe	+ +
		Rosa Hefe	+ + +

Das Optimum des Wachsthums ist mit + + + + + bezeichnet.

Tabelle VI.

Versuche mit pathogenen Keimen.

Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.	Bakterienart	Wachsthum der Infl.-Bac.
Virulente Streptokokken aus einer Pneumonie	0	Megaterium	0
		Cholera	+ +
Virulente Streptokokken aus einer Peritonitis	0	Metschnikoff	+ + +
		Finkler	+
Avirulente Streptok. a. Mund	0	Prodigiosus	+ + +
Diplok. Fraenkel aus Pneum.	0	Diphtheritis	+ + + + +
Avirulente Diplok. aus Mund	0	Staphylococcus aureus	+ + +
Milzbrand	0	Staphylococcus albus	+ + +
Coli	0	Gonokokken	+ + + + +
Typhus	+ + +		

Das Optimum des Wachsthums ist mit + + + + + bezeichnet.

Hier bietet sich uns besser die Gelegenheit, auf einige widersprechende Resultate die Aufmerksamkeit zu lenken, die zwischen den Experimenten mit lebendigen und denen mit sterilisirten Bakterien zu bestehen scheinen. Viele von denjenigen Bakterien, die in der That in lebendigem Zustande gar keine begünstigende Wirkung der Influenzabacillen gegenüber zeigten, haben sich im sterilisirten Zustande als besser passend erwiesen.

Der Leser wird aber diesen Widersprüchen kaum zu grossen Werth beilegen, wenn er daran denken wird, dass wir mit der Sterilisirung alle



diejenigen Vitalitätserscheinungen aufgehoben haben, die sich dem Wachsthum der Influenzabacillen gegenüber vielleicht als schädlich erweisen konnten. Unter diesen ist in erster Linie das leichte Ueberwuchern der Bakterien über die zarten Influenzastäbchen zu erwähnen. Bei der Anordnung von unseren Experimenten wurde versucht, diesem Hindernisse möglichst auszuweichen; man konnte aber nicht die ungeheuer grossen Unterschiede ausgleichen, die zwischen dem ganz üppigen Fortkommen der meisten Bakterien auf einfachem Agar und dem negativen Wachsthum der Influenzabacillen auf demselben Nährboden bestehen. Die Richtigkeit dieser Anschauung wird übrigens durch die viel günstigeren Resultate bewiesen, die wir gehabt haben, wenn wir einen für Influenza nicht ganz ungeeigneten Nährboden gewählt haben; auf Ascites- und auf Blutglycerinagar waren die Resultate schon viel günstiger.

Es ist ferner auch möglich, dass die Sterilisirung das Freiwerden der im Zellleibe der Bakterien enthaltenen Substanzen begünstigt und hiermit auch das Wachsthum der Influenzakeime erleichtert habe. Bei der Mischung von sterilisirten Bakterien mit dem Agar wurden übrigens grössere Mengen von Bakteriensubstanz mit den Influenzabacillen in Berührung gebracht, als bei der einfachen Nachbarschaft einer Influenzacolonie mit den Colonieen von anderen, lebendigen, überwuchernden Bakterien.

Was es nun sei, viel wichtiger ist für uns vor Allem die Lösung der Frage, welche Faktoren bei den verschiedenen Bakterien ins Spiel kommen, um das Wachsthum der Influenzabacillen zu befördern. Wir könnten in der That schon von Anfang die Frage stellen: sind es einfach chemische Faktoren, die aus der Substanz selbst, die in den Bakterienleibern enthalten ist, ein günstiges Nährsubstrat für die Influenzabacillen bilden, oder kommen noch andere uns unbekannte Erscheinungen ins Spiel? Aus den oben citirten Experimenten, die mit sterilisirten Culturen ausgeführt worden sind, können wir ohne weiteres ganz einfach die erste Hypothese als sicher bewiesene Thatsache annehmen; da wir mit der Sterilisirung alle Vitalitätsphänomene ganz ausgeschlossen haben, so kann es sich demgemäss um nichts Anderes, als um chemische Bestandtheile handeln, die in den Bakterienleibern selbst enthalten sind und ein günstiges Nährsubstrat für die Influenzabacillen bilden.

Wenn wir aber der Frage näher treten wollen, welchen von diesen Körpern, die im Bakterienleibe enthalten sind, die Eigenschaft gebühre, das Wachsthum der Influenzabacillen zu begünstigen, so können wir nicht mit gleicher Sicherheit so schnell antworten.

Die Studien über die chemische Zusammensetzung der Mikroorganismen sind nicht so sehr weit vorgeschritten, dass wir eine sichere Lösung unserer Frage in ihnen finden können. Es liegen zwar Untersuchungen

von Nencki, Brieger, Kramer, Nishimuna vor, die einen Gehalt an Albuminkörpern seitens verschiedener Bakterien aufweisen. Die hohen Werthe von Stickstoffgehalt, die von vielen Autoren (Brieger, Vincenzi, Kappes, Hammerschlag, Kresling, Dziergowski und Rekowski, Cramer[1] u. A.) in der trockenen Substanz von vielen Bakterien gefunden wurden, lassen uns auf einen reichen Gehalt an Albuminkörpern seitens dieser Bakterien schliessen. Was die Identificirung dieser Albuminkörper anbelangt, so liegt noch viel Unsicheres vor, wie aus den vielen Widersprüchen zwischen Forschern wie Nencki, Brieger, Hoffmann, Weyl u. s. w. zu ersehen ist.

Aus allen den ausgeführten chemischen Analysen wird aber der reiche Gehalt der Bakterien an Albumin als sicher bewiesene Thatsache hervorgehoben. Bei den Analysen Cramer's wird dieser Gehalt bis zu 80 Procent der trockenen Substanz calculirt; in den Untersuchungen von Dziergowski und Rekowski bezüglich der Zusammensetzung der Diphtheriebacillen wird ein Werth von 63.4 Procent Albumin angegeben. Auch von de Giaxa[2] wurden analoge Experimente mit gleichen Resultaten angestellt.

Schon in früheren Experimenten ist es uns gelungen, den Werth einiger Albuminkörper bei der Zusammensetzung der Influenzanährböden zu bestimmen. Was den Nucleïn- und Lecithingehalt betrifft, welcher in vielen Bakterien ein erheblicher ist, so können wir durch unsere vorher citirten Experimente[3] und durch andere von Capaldi[4] sehr sorgfältig ausgeführte Versuche einen solchen eher ausschliessen als annehmen. Mit grosser Wahrscheinlichkeit können wir daher auch in den aus Bakterien zusammengesetzten Nährböden, die sich für das Wachsthum der Influenzabacillen günstig bewiesen haben, eine sehr active Wirkung seitens der Albuminkörper, die in den Bakterienleibern selbst enthalten sind, annehmen.

Die Unterschiede, die wir bei den verschiedenen Bakterien betreffs der wachsthumfördernden Eigenschaften den Influenzabacillen gegenüber beobachtet haben, können wir alle ganz einfach mit qualitativen Differenzen bei den verschiedenen Substanzen, die im Bakterienprotoplasma enthalten sind, erklären.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinen verbindlichsten Dank dem Director unserer Klinik, Prof. Cardarelli, für seine rege Unterstützung auszusprechen.

---

[1] Ref. in Flügge, *Die Mikroorganismen.* Bd. I. S. 97 ff.

[2] *Annali d'Igiene.* Celli 1894.

[3] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXII. Nr. 20/21.

[4] *Ebenda.* Bd. XX. Nr. 22/23.



Zur Prophylaxe der Diphtherie.

Von

Doc. **G. Gabritschewsky,**
Vorstand des bakteriologischen Institutes an der Kaiserl. Universität zu Moskau.

Unsere heutigen Kenntnisse über die Diphtherie haben dank den Arbeiten hervorragender Bakteriologen, wie Löffler, Behring, Ehrlich, Roux u. A. eine solche Ausgiebigkeit erlangt, dass uns eine gleiche für viele andere acute Infectionskrankheiten erwünscht wäre. Die Bakteriologie hat uns nicht nur die Aetiologie, Pathogenese und Therapie der Diphtherie klar gestellt, sondern sie gab uns auch werthvolle Mittel in die Hand für die Prophylaxe dieser Krankheit.

Indem wir die Frage über die Präventivimpfungen mit specifischem Serum bei Seite lassen, wollen wir die in der Litteratur niedergelegten bakteriologischen Angaben über das Auffinden von Diphtheriebacillen im Rachen der Reconvalescenten und Gesunden sowie der hieraus zu folgernden prophylaktischen Maassnahmen analysiren. Schon im Jahre 1884 wies Löffler zuerst auf die Möglichkeit des Antreffens von Diphtheriebacillen auf der Schleimhaut Gesunder hin.

Im Jahre 1890 wurde auf dem internationalen medicinischen Congress zu Berlin im Namen des Dr. Roux (1) ein Referat, in welchem folgende Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie empfohlen wurden, verlesen. Roux verweist auf die Nothwendigkeit einer frühzeitigen Diagnose der Diphtherie auf bakteriologischem Wege, hält das Isoliren der Reconvalescenten bis zum Schwund der Bacillen aus der Mundhöhle für erforderlich, sowie das häufige Untersuchen der Halsorgane von Schülern, besonders wenn unter den letzteren Fälle von Diphtherie vorgekommen etc. Nachdem Feer (2) im Jahre 1893 sich überzeugt hatte, dass die Diphtherie auch als Angina catarrhalis, mit Fieber, aber ohne Membranen,

auftreten könne, wandte er die bakteriologische Untersuchung behufs einer frühzeitigen Diagnosenstellung bei allen Kindern sowohl mit Anginen, als auch bei gesunden, die einer möglichen Infection unterliegen konnten, an.

Auf dem medicinischen Congress zu Budapest, im Jahre 1894, wurde auf das nothwendige Isoliren Diphtheriekranker bis zum vollständigen Verschwinden des Infectionsstoffs von den Schleimhäuten sowie auch, wo das nur möglich, auf das Untersuchen von Gesunden, welche mit Diphtherieherden in Berührung gekommen, hingewiesen.

Ich will hier nur einige der 18 Thesen, welche auf dem Budapester Congress von der deutschen Commission, die aus den Professoren Löffler, Behring, Mosler, Pistor und Strübing (3) bestand, in Vorschlag gebracht worden, anführen:

„Der Diphtheriebacillus kann im Rachen bezw. in der Nase gesunder Individuen vorkommen, ohne Krankheitserscheinungen zu machen“ (aus der 5. These).

„Der Kranke ist infectiös, so lange er noch Bacillen auf den Schleimhäuten hat“ (a. d. 7. These).

„Reconvalescenten von Diphtherie sind nicht eher zum freien Verkehr (Kinder zum Schulbesuche) zuzulassen, als bis durch die bakteriologische Untersuchung das Verschwinden der Bacillen konstatirt ist“ — (a. d. 17. These).

Auf diesem Congress theilte Dr. W. H. Welch viele interessante, von den amerikanischen Aerzten Biggs, Park, Beebe und ihm selbst (4) gesammelte Thatsachen mit.

Von 752 bakteriologisch von amerikanischen Collegen untersuchten Diphtheriefällen konnten dieselben bei 325 Kranken 3 Tage nach dem Verschwinden der Membranen keine Bacillen mehr nachweisen; bei 201 5 bis 7 Tage; bei 84 nach 12 Tagen; bei 69 nach 15 Tagen; bei 55 nach 3 Wochen, bei 11 nach 4 Wochen, bei 15 nach 5 Wochen und bei 1 nach 7 Wochen liessen sich keine Bacillen mehr nachweisen.

Die bakteriologische Untersuchung von 330 Individuen, welche in keinem directen Verkehr mit Diphtheriekranken gewesen, ergab bei 8 von ihnen virulente Diphtheriebacillen. Zwei von diesen letzteren acht erkrankten später an Diphtherie. In 14 Familien mit 48 Kindern, bei welchen die Isolirung der Diphtheriekranken mangelhaft oder gar nicht durchgeführt worden war, fand man bei 50 Procent der Kinder im Rachen virulente Diphtheriebacillen. 40 Procent dieser inficirten Kinder erkrankte an Diphtherie. Andererseits konnte man bei vollkommenem Isoliren nur bei 10 Procent der gesunden Kinder Bacillen nachweisen.

Auf dem medicinischen Congress zu Bristol wies in demselben Jahre (1894) Dr. H. Biggs (5) darauf hin, dass, nachdem das Gesundheitsamt



zu New-York die bakteriologische Untersuchung für auf Diphtherie verdächtige Fälle organisirt, die Zahl dieser letzteren auf 5- bis 6000 gestiegen. Diese Untersuchungen ergaben dem Gesundheitsamt, dass das Weiterverbreiten der Krankheit hauptsächlich durch die Reconvalescenten, bei denen selbst 7 bis 8 Wochen im Rachen noch virulente Bacillen angetroffen werden, vor sich gehe. Darauf hin beschloss das Gesundheitsamt, Reconvalescenten nur dann als gesund zu betrachten und die Desinfection der Räumlichkeiten zu gestatten, wenn die bakteriologische Untersuchung in Bezug auf Diphtheriebacillen negativ ausgefallen.

Im Allgemeinen muss man sagen, dass die Bekämpfung der Diphtherie nirgends so rationell gehandhabt wird wie in New-York und anderen amerikanischen Städten.[1] Ohne hier näher auf das Ausführen der bakteriologischen Untersuchung bei Diphtherie einzugehen, gestatte ich mir nur den Hinweis auf prophylaktische Maassnahmen (Isoliren, Desinfection), in Bezug auf welche das New-Yorker Gesundheitsamt alles, was nur heut zu Tage möglich ist, anwendet. Als bester Beleg hierfür können die Circuläre und Instructionen für Aerzte und das Publicum dienen, die mir mit vielem anderen Material zur Bekämpfung der Diphterie in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. H. M. Biggs, Vorstand der bakteriologischen Station am Gesundheitsamt zu New-York zur Verfügung gestellt wurden und die ich anhangsweise zu meiner Arbeit wiedergebe.

Im Jahre 1894 erschien eine sehr ausführliche Arbeit über die Epidemiologie der Diphtherie von Professor C. Flügge (6), in welcher der Verfasser unter Anderem sich dahin äussert, dass das Weiterverbreiten der Diphtherie hauptsächlich durch Gesunde (Reconvalescenten) statthabe. Aeussere Einflüsse, terrestrische, klimatische u. s. w. sind von untergeordneter Bedeutung, wogegen Lebensalter und sociale Einflüsse, enges Zusammenwohnen, reger Verkehr zwischen Inficirten und Gesunden eine grosse Rolle spielen.

In demselben Jahr (1894) haben Löffler und Abel (7) eine bakteriologische Untersuchung von gesunden Schülern während einer Diphtherieepidemie vorgenommen. Bei 4 von 160 Schülern fanden sich Diphtheriebacillen. Zwei von diesen 4 erkrankten später an Diphtherie.

1894 stellte Dr. Aaser bakteriologische Massenuntersuchungen in einer Cavalleriekaserne in Christiania nach wiederholten Diphtheriefällen im Laufe von 4 Monaten an, trotzdem dass die Kranken jedesmal unverzüglich ins Hospital untergebracht und die Wohnräume, als auch die Kleider desinficirt wurden. Die Untersuchung ergab, dass von 89 Individuen 17, i. e. 19 Procent, virulente Diphtheriebacillen beherbergten.

[1] Vgl. Kolle. *Diese Zeitschrift.* Bd. XIX.

Alle inficirten Soldaten wurden gleich darauf isolirt. Einer von ihnen erkrankte am nächstfolgenden Tage an einer schweren Diphtherie; bei zwei anderen trat später eine Angina lacunaris mit unbedeutender Membranbildung und Fieber auf. Bei den übrigen kam es nur zu einer Hyperämie der Rachenschleimhaut, die so lange anhielt als die Schleimhaut Diphtheriebacillen beherbergte. Der günstige Erfolg dieser Maassnahmen — das Erlöschen der Diphtherie-Epidemie in der Kaserne —, bemerkt der Autor, veranlasste ihn die bakteriologische Untersuchung auch in einigen anderen Fällen zu verwerthen. Als in einer Scharlachabtheilung ein Fall von Diphtherie auftrat, ergab die Untersuchung aller Kinder dieser Abtheilung bei 20 Procent von ihnen Diphtheriebacillen. Nachdem alle inficirten Kinder, die in eine andere Abtheilung übergeführt worden, Präventivinjectionen erhalten hatten, traten keine neuen Erkrankungen auf.

Interessant ist der Umstand, dass eine dieser Kranken, bei welcher vom 6. bis 31. October Diphtheriebacillen noch nicht verschwunden waren, nach Hause entlassen wurde. Am 6. November wurden zwei kleine Schwestern dieser entlassenen Kranken ins Spital mit Diphtherie eingeliefert.

Ein anderes Mal kam wiederum in derselben Scharlachabtheilung ein Fall von Diphtherie vor; bei der bakteriologischen Untersuchung von 29 Kindern constatirte man bei 9 virulente Diphtheriebacillen. Bei einem der isolirten Kinder stellte sich eine leichte Diphtherie — Membranen auf den Tonsillen — ein.

In demselben Jahre 1894 empfahl Deschampes (9) auf Grund der Thatsachen, dass die Diphtherie durch Reconvalescenten und durch zu früh aus den Hospitälern Entlassene in die Familien eingeschleppt werde, das Errichten von Stätten für Diphtheriereconvalescenten.

Auf Grund der Untersuchungen über die antitoxischen Eigenschaften gesunder Individuen dem Diphtheriegift gegenüber kam Wassermann (10) im Jahre 1895 zum Schluss, dass viele gegen Diphtherie refractäre Individuen auf ihren Schleimhäuten lange Zeit hindurch virulente Diphtheriebacillen beherbergen und somit die Diphtherie weiter verbreiten können.

Von 20 Kindern, die der Möglichkeit einer Infection unterlagen, fand Wassermann bei 3 von ihnen Diphtheriebacillen; eins dieser letzten drei Kinder erkrankte am nächsten Tag an Diphtherie.

Indem Wassermann auf die bakteriologische Untersuchung als auf eine prophylaktische Maassnahme bei Bekämpfung der Diphtherie hinweist, spricht er sich dahin aus, dass die Untersuchung nicht nur bei Erkrankten ausgeführt, sondern auch auf die scheinbar Gesunden ausgedehnt werden müsse. Die Umgebung der Kranken kann im Sinne eines Weiterver-



schleppens der Infection nur dann als ungefährlich betrachtet werden, wenn die bakteriologische Untersuchung negativ ausgefallen. Ein besonderes Augenmerk ist darauf zu richten, dass den Geschwistern erkrankter Kinder nicht früher der Schulbesuch gestattet werde, bis durch die Untersuchung des Rachens die Anwesenheit von Diphtheriebacillen sichergestellt ist.

Diese Vorschrift ist noch nach anderer Richtung hin von einschneidender Wichtigkeit, weil sonst die Desinfection der Wohnräume oft völlig illusorisch wird.

Auf den XIII. Congress für innere Medicin zu München im Jahre 1895 theilte Dr. Trump (11) die Resultate seiner bakteriologischen Untersuchungen über Diphtherie mit, auf Grund deren er zu folgenden Schlüssen kommt:

1. Bei Kranken mit Angina diphtherica findet man oft Diphtheriebacillen auch auf anderen Schleimhäuten, ohne dass irgend welche pathologische Veränderungen an denselben vorliegen.

2. Reconvalescenten beherbergen Diphtheriebacillen zuweilen sehr lange (in einem Falle konnte man dieselben noch 82 Tage nach der Erkrankung nachweisen); bei gesunden Kindern liessen sich Diphtheriebacillen konstatiren, die wahrscheinlich durch Reconvalescenten aus den Diphtherieabtheilungen eingeschleppt worden waren.

3. Gesunde Individuen, die Bacillen beherbergen, können die Quelle von Hausepidemieen werden.

4. Die Infection steht auf dem Wege des directen Contactes, weshalb eine blosse Desinfection der Wohnräume und Effecten zum Verhüten einer Weiterverbreitung der Infection sich als ungenügend erweist.

Im Jahre 1896 untersuchte Dr. Müller (12) in der Klinik des Professors Heubner systematisch alle Kinder, wobei von 92, welche vom Betreten bis zum Verlassen des Hauses beobachtet wurden, 20 virulente Diphtheriebacillen aufwiesen. Der Autor vermerkt die wichtige Bedeutung solcher Untersuchungen für die Prophylaxe der Diphtherie, da gegen diese Infection immune Individuen „wandernde Diphtherieherde“ abgeben können.

In demselben Jahr sprechen sich Hewlett, Nolan (13) und Gundobin (14) dahin aus, dass nur die bakteriologische Untersuchung als Kriterium für die Isolationsdauer der Kranken von Gesunden heranzuziehen sei.

Im Jahre 1896 spricht F. H. Williams (15) auf Grund seiner Beobachtungen sich dahin aus, dass in Familien, in welchen die ersten Diphtheriefälle aufgetreten, es nothwendig ist eine bakteriologische Untersuchung auch der scheinbar Gesunden vorzunehmen. Für den sicheren

Nachweis von Diphtheriebacillen im Rachen ist zuweilen ein einmaliges Untersuchen nicht hinreichend.

Im Jahre 1897 legte C. Fraenkel (16) in einer sehr interessanten Arbeit diejenigen allgemeinen Grundlagen zur Bekämpfung der Diphtherie, die auf dem heutigen Stand der Wissenschaft basiren, nieder. Er stellt als ein nothwendiges Postulat eine rationellere Bekämpfung der Diphtherie auf als das bisher geschehen und weist auf die Grundlosigkeit der Gegner und Skeptiker gegen die Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie hin. C. Fraenkel betrachtet als die wichtigste Quelle der Infection den Menschen (Kranken, Reconvalescenten und Gesunden) und von untergeordneter Bedeutung verschiedene Effecten, die mit den Sekreten der Schleimhäute Inficirter verunreinigt sind. Desinfection und Isolation sind somit die besten und rationellsten Mittel. Da das Isoliren von Kranken in Privathäusern, ja selbst in reichen, auf grosse Schwierigkeiten stösst, so ist es nothwendig, möglichst früh die Kranken ins Hospital zu schaffen. Mit der Heilung der Krankheit selbst ist die Aufgabe des Klinikers beendet, da aber der Reconvalescent zuweilen noch lange Zeit Träger der Diphtheriebacillen ist, so beginnt jetzt die Aufgabe des Hygienisten und Sanitätsarztes, dem Weiterverschleppen der Infection vorzubeugen. Es muss somit als ein logisches Postulat für die Prophylaxe anerkannt werden „das Errichten an den Hospitälern von Stationen, in welchen alle diejenigen Reconvalescenten, die noch Löffler'sche Bacillen beherbergen, zurückbehalten werden".

Eine strenge Isolirung ist nicht nur für Fälle von schwerer wirklicher membranöser Angina diphtherica, sondern auch für die leichteren Formen derselben, für verschiedene andere durch Diphtheriebacilien veranlasste Infectionen, sowie endlich auch für gesunde Individuen, die zuweilen Träger der Infection sein können, nothwendig. „Unmögliche Anforderungen", werden Viele von Ihnen ausrufen. Ganz richtig, erwidert der Autor selbst auf diesen Einwurf; heut zu Tage ist die Realisirung dieser Wünsche im ganzen Umfange kaum möglich, aber für die Praxis ist es nothwendig die Aufgabe zu stellen und das Ziel, das Schritt für Schritt in rastloser Arbeit erreicht werden soll, zu bestimmen. An und für sich Unmögliches verlangen die vorher aufgestellten Sätze gewiss nicht.

Im Jahre 1897 wies Fibiger (17) auf Grund der einschlägigen Litteratur und durch eigene Beobachtungen nach, dass das Weiterverbreiten der Diphtherie durch gesunde, aber inficirte Individuen statthabe und beschrieb ausführlich eine Diphtherieepidemie, in welcher er bakteriologische Untersuchungen und Isolation der Gesunden — das Aaser'sche Verfahren zur Bekämpfung der Diphtherie, wie er dasselbe bezeichnet — anwandte.



Bevor Fibiger auf die Beschreibung der von ihm beobachteten Fälle eingeht, giebt er Zahlenangaben über die Diphtheritieepidemie in Stockholm, wo Dr. Hellström zur Bekämpfung der Epidemie das Isoliren der Kranken von Gesunden durchführte, an.

In den Jahren 1894—1895 beobachtete Hellström in einem Leibgarderegiment 25 Diphtheriefälle. Da das Ueberführen der Kranken ins Spital und wiederholt ausgeführte Desinfectionen die Epidemie nicht zum Stillstand brachten, so schritt man zur Untersuchung von allen 786 Soldaten, unter welchen man bei 151, also in 19,21 Procent virulente Diphtheriebacillen konstatirte. Alle Inficirten isolirte man von den Gesunden; nur einer von den Inficirten erkrankte später an Diphtherie. Nach diesen Maassnahmen erlosch die Diphtherieepidemie in diesem Regiment.

Fibiger selbst beschreibt eine Diphtherieepidemie in einem Gymnasium, wo 8 Schüler in zwei Zeitabschnitten mit einem Interval von 32 Tagen, während welchen die Schüler anlässlich der Feiertage entlassen worden waren, erkrankten. Als die gewöhnlichen Maassnahmen — Isolation und Desinfection — zu Nichts geführt, entschloss sich Fibiger alle 134 Schüler, wie auch das Dienstpersonal am Gymnasium zu untersuchen, wobei in 22 Fällen Pseudodiphtherie-, fragliche Diphtherie- und echte Diphtheriebacillen (10 Fälle) konstatirt wurden. Nachdem man die Inficirten isolirt hatte, kam 1 $^1/_2$ Jahre lang kein neuer Fall vor.

Interessant sind einige Angaben über die Dauer des Vorhandenseins von Diphtheriebacillen im Rachen. Bei einem Knaben verblieben virulente Diphtheriebacillen im Rachen 4 Monate lang, in einem anderen Fall selbst 9 Monate. Mit Rücksicht auf solche Ausnahmsfälle weist Fibiger aus der einschlägigen Litteratur auf den Fall von Le Geudre et Pochon (18) hin, in welchem 1 $^1/_4$ Jahre nach Ablauf des diphtheritischen Processes noch Bacillen konstatirt werden konnten.

Auf Grund der soeben angeführten Thatsachen steht es für Fibiger fest, dass das Isoliren der Inficirten und die Desinfection im Princip das allerbeste Mittel zur Bekämpfung von Diphtherieepidemieen in Anstalten, wo in der Masse der dort zusammenkommenden Menschen die allergünstigsten Bedingungen für ein Weiterverbreiten der Infection vorliegen, ist. Gleich C. Fraenkel verhehlt auch Fibiger sich nicht die Schwierigkeiten bei der praktischen Ausführung dieser Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie und meint, dass heut zu Tage eine ideale Isolirung aller Inficirten im ganzen Umfange nicht durchführbar wäre. Die von praktischer Seite erhobenen Einwürfe gipfeln 1. in der Schwierigkeit alle Inficirten zu entdecken, hauptsächlich bei einmaligem Untersuchen und in denjenigen Fällen, in welchen nur spärlich Diphtheriebacillen vorhanden



sind, und 2. in der Nothwendigkeit Gesunde ziemlich lange, zuweilen selbst einige Monate zu isoliren.

„Was aber thun," fragt der Autor, „wenn ein so langandauerndes Isoliren unmöglich ist," und beantwortet selbst die gestellte Frage: dass Alles vernachlässigen und sich selbst überlassen ist absolut verwerflich, um so mehr, wenn es sich (wie in Herlufsholm) um ein enges Zusammenleben junger Leute und sehr empfänglicher Kinder handelt. Fibiger giebt uns keine bestimmten praktischen Winke, wie dieses Dilemma zu lösen wäre: von rationalen Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie abzusehen ist unmöglich, ihre Anwendung aber äusserst schwierig.

Im Jahre 1897 sprach Glücksmann (19) beim Hinweis auf das Antreffen von Diphtheriebacillen bei vollständig Gesunden sich dahin aus, dass solche Individuen die Diphtherie verschleppen können, da sie die Träger und Züchter des inficirenden Agens seien.

Auf Grund der uns bekannten Eigenschaften der Diphtheriebacillen behauptet der Autor, dass die Diphtheriebacillen sowohl von Reconvalescenten und Gesunden ebenso infectiös sind als auch von Kranken. „Das Constatiren von Diphtheriebacillen bei Genesenden," fährt Glücksmann fort, „ist für die Prophylaxe von Bedeutung, da Reconvalescenten nur dann zum freien Verkehr zugelassen werden dürfen, sobald sie keine Diphtheriebacillen mehr beherbergen."

Mit Rücksicht darauf haben das Kinderspital und einige praktische Aerzte in Zürich in bestimmten Intervallen systematisch jeden geheilten Fall so lange untersucht, bis die Diphtheriebacillen verschwanden. Ausnahmen von dieser Regel fanden nur bei Ueberfüllung des Spitals oder auf dringendes Verlangen unbelehrbarer Eltern, die ihre Kinder früher bei sich zu Hause haben wollten, statt.

In demselben Jahre (1897) führen Foulerton und Llewellyn (20) ein Beispiel einer Diphtherieinfection durch einen gesunden Knaben aus einer Pension, in welcher Diphtheriefälle vorgekommen, an. Der Knabe verliess die Pension am 30. XI., als alle Kranken nach Hause entlassen worden waren, wurde zu Hause isolirt und erhielt eine Wärterin für sich allein. Am 8. XII. und 13. XII. constatirte man im Rachen dieses Knaben virulente Diphtheriebacillen, die sich am 15. XII., am 20. XII. und am 20. I. nicht mehr nachweisen liessen. In der Zeit, während welcher der Knabe in seinem Rachen Diphtheriebacillen beherbergte, inficirte er seine Wärterin, die am 21. XII. an Diphtherie erkrankte.

Foulerton und Llewellyn empfehlen alle Schüler, die in die Schule nach Schliessen derselben in Folge einer Diphtherieepidemie zurückkehren, bakteriologisch zu untersuchen und nur die keine Diphtheriebacillen beherbergenden Schüler zum Besuche zuzulassen.



Im Jahre 1897 weist Dr. Netter (21) in einer Arbeit, die mit der Frage über das Isoliren von acuten Infectionskranken sich beschäftigt, auf die Gefahr der Verbreitung der Diphtherie durch Reconvalescenten, in deren Rachen oft ziemlich lange Diphtheriebacillen angetroffen werden, hin und spricht sich u. A. wie folgt aus: „Leider giebt es bisher noch keine Anstalten, in welchen man genügend lange die aus den Pariser Hospitälern entlassenen Diphtheriekranken isoliren könnte.“ In den Pariser Krankenhäusern verbleiben die Inficirten gewöhnlich nicht länger als 10 Tage in Folge Raummangels; das Anormale und Unerwünschte dieser Sachlage springt um so mehr in die Augen, als in Frankreich in Bezug auf die Lehranstalten eine ministerielle Verfügung vom Jahre 1893 besteht, nach welcher an Diphtherie erkrankte Schüler zum Besuch der Schule erst nach Ablauf von 50 Tagen zugelassen werden.

Im Jahre 1898 beschrieben Simonin et Benoit (22) ihre Untersuchungsresultate über larvirte Diphtherie, von welcher sie viele Fälle durch die bakteriologische Untersuchung in Cavallerieregimentern in Lyon in den Jahren 1896 und 1897 feststellen konnten. Unter 108 Untersuchten hatten 9 vollkommen ausgesprochene Diphtherie und 23 larvirte Diphtherie (12 mit Angina catarrhalis und 11 ohne dieselbe). Die Dauer einer solchen Angina betrug 50 bis 40 Tage und in einem Falle selbst 55 Tage. Nach den Untersuchungen dieser Autoren können selbst bei Abwesenheit von Membranen — Lähmungen und wahrer Diphtheriemarasmus sich einstellen. Was die Dauer des Verweilens von Löffler'schen Bacillen im Rachen betrifft, so währt dieselbe in vollkommen ausgesprochenen Fällen von Diphtherie im Durchschnitt 34 Tage, wogegen dieselbe bei Angina diphtherica larvata 62 Tage und ohne Angina selbst 83 Tage beträgt. Die larvirte Diphtherie pflegt man bei Leuten im vorgerückten Alter öfters als bei jugendlichen Individuen und bei Kindern anzutreffen. Während der Diphtherieepidemie constatirte man larvirte Diphtherie in 22·3 Proc. und nach 3 Monaten in 18·18 Proc., während am nichtinficirten Orte nur 3·84 Proc. sich nachweisen liessen. Treten diphtherieverdächtige Fälle unter einer Menschenmasse (Truppentheilen) auf, so sollen auf Vorschlag der Autoren alle Individuen klinisch und bakteriologisch untersucht und die Inficirten isolirt werden.

Im Jahre 1898 sprach Dr. Mulert (23) sich dahin aus, dass in der Prophylaxe der Diphtherie die Isolirung nothwendig und, soweit überhaupt möglich, durchgeführt werden müsse. Die bakteriologische Untersuchung giebt in einer bestimmten Zeit ein sicheres Kriterium zum Isoliren der Reconvalescenten. Dr. Mulert führt einen im Jahre 1896 von der Medicinalabtheilung des deutschen Kriegsministerims erschienenen Erlass an, in dem es heisst: Diphtheriereconvalescenten dürfen aus den La-



zarethen nicht früher entlassen werden, als bis eine dreifache auf einander folgende mikroskopische Untersuchung und die Cultur die Abwesenheit der Diphtheriebacillen sicher stellt, nachdem der pathologische Process klinisch als Heilung geendet. Leider, fährt Dr. Mulert fort, scheinen solche Maassnahmen in unseren Civilhospitälern nicht allgemein üblich zu sein, was für die Prophylaxe der Diphtherie sehr erwünscht wäre, um so mehr, als wiederholte Beobachtungen sichergestellt haben, dass Reconvalescenten nach Schwund der Membranen und Ablauf des Fiebers noch viele Wochen lang in ihrer Rachenhöhle virulente Bacillen beherbergen und das Entlassen solcher Patienten somit eine gefährliche Quelle für die Weiterverbreitung der Diphtherie darstellt. Der Autor beschreibt eine kleine Epidemie, in welcher ein zu frühes Entlassen eines Diphtheriekranken neue Fälle in der Familie derselben zur Folge hatte.

Mit Rücksicht auf den eben angeführten Fall weist Prof. Mosler darauf hin, dass in seiner Klinik zu Greifswald diese Maassnahme nach Möglichkeit durchgeführt wird und dass die Hauptschwierigkeiten in den materiellen Verhältnissen gipfeln. Beide Autoren äussern ihr Bedauern über die Abwesenheit gesetzlicher Bestimmungen betreffs der Zeitdauer für die Isolirung von Diphtheriekranken in den Hospitälern.

Czaplewski (24) unterstreicht die Bedeutung der bakteriologischen Untersuchung für die Sicherstellung nicht nur der gewöhnlichen, sondern auch der abortiven Formen der Diphtherie, was ein genaues Bestimmen der Quelle für die Weiterverbreitung der Infection und die Anwendung entsprechender Maasnahmen für Isolirung und Desinfection ermöglicht.

In demselben Jahre (1898) kommt Grigorjew (25) auf Grund von bakteriologischen Untersuchungen an Diphtheriereconvalescenten zu folgenden Schlüssen:

1. Eine bestimmte Frist für das Isolirtbleiben aller von Diphtherie genesender Kinder lässt sich nicht festsetzen.

2. Der Verkehr solcher Kinder mit gesunden ist nur nach wiederholten bakteriologischen Untersuchungen des Schleims aus Rachen- und Nasenhöhle zu gestatten.

3. Eine solche bakteriologische Untersuchung ist besonders nothwendig bei Kindern in schulpflichtigem Alter.

4. Bei den Diphtherieabtheilungen in den Hospitälern ist es nothwendig, für die Reconvalescenten Krankensäle, die nach Möglichkeit isolirt von denjenigen seien, in welchen die kranken mit frischer Diphtherie behafteten Kinder liegen, herzurichten.

Im Jahre 1898 stellten Vesbrook, Wison, McDaniel, Adair (26) eine systematische bakteriologische Untersuchung der Zöglinge einer Schule,

in welcher bei einer beständigen Zahl von 250 Schülern epidemische Diphtherie seit 1897 ausgebrochen war, an. Von 478 untersuchten Fällen war bei 306 ein negatives Resultat und von den restirenden 172 mit positivem Resultat wiesen 68 Kinder die klinischen Symptome der Diphtherie auf, wogegen 104 gesund waren. Bei vielen Kindern konnte man Bacillen noch im Verlaufe von Monaten nachweisen. Auf Grund dieser Untersuchungen kommen die Autoren zum Schluss, dass man an Diphtherie erkrankte und mit ihr inficirte Kinder bis zum vollständigen Schwund der Diphtheriebacillen bei zweimaligem negativem Untersuchungsresultat isoliren müsse.

Im Jahre 1898 publicirte Prof. Soerensen (27) seine im Laufe von zwei Jahren (1895 und 1897) angestellten Beobachtungen an Scharlachkranken in Bezug auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen nicht nur in Fällen, in welchen irgendwelche klinische Symptome von Seiten des Kehlkopfes und der Trachea vorlagen, sondern auch nicht selten bei allen Kranken, die in Abtheilungen, wo Diphtheriefälle vorkamen, lagen. Von 1500 Kranken hatten 240 (16 Proc.) Diphtheriebacillen und von diesen letzteren Fällen fand man bei 32 (13·3 Procent) das klinische Bild (Membranen) der Diphtherie. Nur ein Fall verlief letal.

Von 213 Kranken mit Diphtheriebacillen erkrankten 5, nachdem die bakteriologische Untersuchung positiv ausgefallen.

Von 1547 Fällen, die beim Eintritt in die verschiedenen Abtheilungen des Hospitals untersucht wurden, fanden sich bei 38 (2·5 Procent)[1] Diphtheriebacillen vor, was eine der möglichen Quellen für die Weiterverbreitung der Infection darbieten kann.

Leider finden sich in der Soerensen'schen Arbeit, auf welche viel Mühe verwendet worden, keine näheren Hinweise in Bezug auf die diagnostischen Merkmale der Diphtheriebacillen. Der Pseudodyphtheriebacillen ist mit keinem Wort Erwähnung gethan, wenngleich die letzteren so häufig auf den Schleimhäuten Gesunder und Kranker angetroffen werden, als dass sie bei den Kranken Soerensen's gefehlt hätten.

Die Virulenz der Culturen ist nur in sehr wenigen Fällen bestimmt worden. Das Neisser'sche Verfahren konnte der Autor nicht anwenden, da dasselbe erst im Jahre 1897 beschrieben wurde. Somit haben die angeführten Zahlen nur einen bedingten Werth und kann die Thatsache

[1] v. Ranke (*Münchener med. Wochenschrift*, 1886, Nr. 42) fand unter 94 Fällen von Scarlatina bei 65 Procent Membranen, von welchen bei 53·7 Procent Diphtheriebacillen constatirt wurden. Diese Untersuchungen fallen ebenfalls in die Zeit, in welcher die Differentialdiagnose zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nicht besonders exact durchgeführt wurde, was bei dem heutigen Stand der Untersuchungsmethoden möglich ist.



des seltenen Befallenwerdens unter den Trägern der Diphtheriebacillen (?), unabhängig von allen anderen Umständen, nur dadurch erklärt werden, dass die Zahl der 240 nicht nur Fälle mit echten Diphtheriebacillen, sondern auch solche mit Pseudodiphtheriebacillen umfasste.

Alle acuten Fälle von Diphtherie und Träger der Diphtheriebacillen isolirte Soerensen von allen anderen Kranken dieses Krankensaals, das Isoliren wurde dagegen nicht vorgenommen, wenn man Diphtheriebacillen bei der Mehrzahl oder bei allen Kranken des betreffenden Saales constatirte.

Dunbar und Vogel (28) kommen auf Grund der einschlägigen Litteratur zum Schluss, dass bei der Bekämpfung der Diphtherie die allersicherste Combination von Maassnahmen in der Desinfection und Isolirung, die durch bakteriologische Untersuchung begründet, wie dies in einigen amerikanischen Städten durchgeführt wird, gipfelt.

Im vorigen Jahre sammelte Kober (29) alle bis auf ihn in der Litteratur niedergelegten Angaben über den Nachweis von Diphtheriebacillen bei Gesunden, wobei es sich herausstellte, dass die bakteriologische Untersuchung einen positiven Ausschlag bei 7 Proc. gesunden und solcher Individuen, die mit Diphtheriekranken in keine Berührung gekommen, und bei 18·8 Proc. solcher, die nachgewiesenermaassen einem möglichen Inficirtwerden unterlegen hatten, ergab. Der Autor selbst constatirte unter 600 gesunden und solchen Individuen, die einer Infection von Seiten Diphtheriekranker sich nicht ausgesetzt, Diphtheriebacillen bei 15, d. h. 2·5 Proc. und von 123 Personen, die aus Diphtherieherden stammten, Bacillen bei 10, d. h. 8 Procent.

Kober behauptet, gestützt auf ein genaues Studium der einschlägigen Litteratur so wie auch auf seine eigenen Erfahrungen, dass die Hauptgefahr in der Weiterverbreitung der Diphtherie somit von Seiten dieser scheinbar Gesunden drohe.

Ausserdem führt der Autor noch eine ganze Reihe von interessanten Thatsachen an, die ich hier übergehe, um den Umfang meiner Arbeit nicht zu sehr auszudehnen.

Ueber die Epidemiologie der Diphtherie schreibt Weichselmann (30) 1899 wie folgt: eine wichtige Rolle in der Weiterverbreitung der Diphtherie spielt die oben angeführte Thatsache, dass Gesunde und scheinbar Gesunde, sowie auch Reconvalescenten in ihren Nasen- und Rachenhöhlen virulente Diphtheriebacillen enthalten und somit unbehindert die Keime der Krankheit weiterverbreiten können.

Im Jahre 1899 theilte L. Martin (31) die prophylaktischen Maassnahmen, die zur Bekämpfung der Diphtherie in drei kleinen Städten, Privas, Petit-Tournier und Flaviac angewandt wurden, mit. Unter allen, prophylaktischen Maassnahmen, die man gegen die Diphtherie gebraucht

bemerkt u. A. der Autor, ist die einfachste die bakteriologische Untersuchung. Dieses Mittel gestattet ein frühzeitiges Erkennen der Infection und erweist sich äusserst nützlich in den Schulen, indem es die Inficirten zu erkennen und sie von den Gesunden zu isoliren ermöglicht. Das Anwenden dieser Maassnahme ergab dem Autor in den Hospitälern eben solche vorzügliche Resultate. Schon im Jahre 1895, als in die Diphtherieabtheilung eines der Pariser Hospitäler mehrere Masernkranke überführt wurden, starben alle Masernkranke ungeachtet der Serumtherapie. Martin stellte alsdann eine bakteriologische Untersuchung aller masernkranker Kinder an und fand bei 9 Diphtheriebacillen. Acht dieser 9 isolirten Kinder verstarben. Im Laufe von drei Monaten wurden keine neuen Erkrankungen beobachtet.

Ein anderes Mal hörte im Hospice des Enfants assistés eine endemische schwere Diphtherie erst dann auf, nachdem eine systematische bakteriologische Untersuchung der Kinder durchgeführt und die Inficirten bis zum vollständigen Schwund der Diphtheriebacillen aus dem Rachen isolirt wurden.

Garratt und Wahlbourn (32), die im London Fever Hospital 666 Scharlachkranke auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen im Rachen untersuchten, constatirten bei 8 Kranken, d. h. in 1·2 Proc. Diphtheriebacillen und bei 21, d. h. in 3·2 Proc. Pseudodiphtheriebacillen. Diphtherie als Nachkrankheit des Scharlachs hörte fast ganz auf, nachdem man es sich zur Regel gemacht, einen jeden in die Scharlachabtheilung eintretenden Kranken bakteriologisch zu untersuchen und bei Anwesenheit von Diphtheriebacillen ihn sofort zu isoliren.

Bevor ich zu meinen eigenen Beobachtungen übergehe, muss ich noch auf zwei soeben erschienene Arbeiten hinweisen. In einem norwegischen Seehospiz für tuberculöse Kinder, unter welchen Fälle von Diphtherie auftraten, stellte Dr. Sinding-Larsen (33) als prophylaktisches Mittel bakteriologische Untersuchungen an. Trotz dieser Maasnahme, die wiederholt ausgeführt, trotz Isolirung und wiederholter Desinfection hörte die Diphtherie nicht auf. Der Autor gesteht dies selbst ein und verweist auf die Unvollkommenheit in der Ausführung der bakteriologischen Untersuchung, wobei nur nach Beseitigung der Mängel die Epidemie erlosch. Diese Art der Bekämpfung in der Privatpraxis stösst auf viele praktische Schwierigkeiten, so dass nach Ansicht des Autors dieselbe nur für Hospitäler und Asyle für tuberculöse Kinder, die nach seinen Beobachtungen für diese Infectionskrankheit ganz besonders disponirt sind, verwendbar ist. Zu bemerken ist, dass von der Zahl der mit schwerer Tuberculose Behafteten in der angeführten Epidemie 80 Procent erkrankten, von denjenigen mit leichter Tuberculose nur 16 Procent.



Endlich finden wir in der Arbeit des Dr. Cobbett (34) dieselben Anforderungen für eine rationell durchgeführte Prophylaxe der Diphtherie, welcher alle Autoren beipflichteten, wie dies aus der einschlägigen Litteratur ersichtlich.

Der Autor glaubt, dass solche Maassnahmen behufs Isolirung Genesender und Gesunder bis zum Schwund der Diphtheriebacillen auf praktische Schwierigkeiten stossen und zweifelt nicht, dass es zur Realisirung derselben der Beihülfe der Gesellschaft selbst bedürfe. Mit Rücksicht auf alles früher Angeführte ist es nothwendig, die Gesellschaft mit den neuesten Ergebnissen der Wissenschaft über diese Frage bekannt zu machen sowie darauf hinzuweisen, dass wir Mittel zur Bekämpfung des epidemischen Weiterverbreitens der Diphtherie besitzen. Da uns solche Maassnahmen zu Gebote stehen, wäre es sündhaft, dieselben unbeachtet zu lassen.

Wenden wir uns jetzt zur Betrachtung derjenigen Fälle, in welchen die bakteriologische Prophylaxe der Diphtherie bei uns in Russland angewandt wurde.

Aus dem medicinischen Bericht der Anstalten der Kaiserin Maria für das Jahr 1897/1898 ersieht man, dass die auf bakteriologische Untersuchungen begründeten prophylaktischen Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie zuerst von Prof. K. Rauchfuss schon im Jahre 1896 in einer Lehranstalt zu St. Petersburg zur Anwendung kamen, wogegen erst am 28. Februar 1898 auf der medicinischen Conferenz dieses Ressorts das von Prof. K. Rauchfuss ausführlich zusammengestellte Project von Maassnahmen zur erfolgreichen Bekämpfung der Diphtherie in geschlossenen Anstalten gut geheissen wurde.

Das Project basirt auf folgenden zwei Thatsachen, die durch den Verlauf der Diphtherieepidemieen in den Petersburger Internaten bestätigt wurden:

1. durch das Bestehen von Anginae lacunares diphthericae ohne deutliche Anzeichen einer Diphtherie und

2. durch das Antreffen von virulenten Diphtheriebacillen bei gesunden unempfänglichen Individuen, die aber für die Infection empfängliche inficiren können.

Auf Grund dieser Thatsachen wurde beschlossen, nicht nur die Erzieherinnen, welche an den verschiedenen Formen von Angina erkrankten, sondern auch alle vollkommen Gesunde, die in Infectionsherden lebten, zu untersuchen und diese letzteren bei positivem Befund von Diphtheriebacillen in eine besondere Abtheilung des Hospitals „für gesunde Inficirende“ überzuführen.

1897 brachte ich in Vorschlag, sich dieser Maassnahme in dem

adeligen Knabenpensionat zu Moskau zu bedienen, wo in kurzer Zeit zehn Diphtheriefälle vorkamen. Dr. Wlassjewski aus unserem Institut stellte an 66 Schülern, sowohl gesunden als auch an Reconvalescenten Untersuchungen an und fand bei 21 Diphtheriebacillen. Zwei von ihnen erkrankten später an Diphtherie. Nach Isolirung der Inficirten und Desinfection erlosch diese Epidemie.

1899 hatte ich selbst Gelegenheit, diese Maassnahme in einem der Kinderasyle, wo sich 11 Knaben im Alter von 4 bis 7 Jahren und vier Erwachsene befanden, durchzuführen. Trotz eines sofortigen Ueberführens der Erkrankten in ein Hospital und einer gründlichen Desinfection hörten die Diphtheriefälle nicht auf.

Bei der Untersuchung aller Insassen ohne Ausnahme constatirte man bei zwei Knaben, die angeblich an Diphtherie nicht krank gewesen, virulente Diphtheriebacillen. Nachdem man die Inficirten von den Gesunden isolirt und eine gründliche Desinfection erst bei negativem Bacillenbefund der Inficirtgewesenen ausgeführt, kamen neue Erkrankungsfälle nicht mehr vor.

Man wandte sich im vorliegenden Fall an mich, da alle üblichen Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie, drei Mal durchgeführt, ganz resultatlos geblieben. Die Durchführung der bakteriologischen Maassnahmen stiess nicht im Entferntesten auf irgend welche Schwierigkeiten und Hindernisse, weder technischer- noch socialerseits.

In demselben Jahre (1899) hielt ich auf dem Congress der Gesellschaft russischer Aerzte zu Kasan einen Vortrag, in welchem ich die allgemeinen Grundlagen, die zu Gunsten einer bakteriologischen Untersuchung nicht nur von Reconvalescenten, sondern auch von Gesunden als Maassnahme einer rationellen Prophylaxe zur Bekämpfung der Diphtherie in Vorschlag kämen, anführte (35).

Zu Ende desselben Jahres (1899) trat in einem der hiesigen Mädcheninstitute Diphtherie auf; man schritt aus prophylaktischen Rücksichten zu einer bakteriologischen Massenuntersuchung aller im Institut lebenden Schülerinnen. Die Resultate dieser Maassnahme sind von Dr. Berestnew (36) veröffentlicht worden. Hier sei nur bemerkt, dass im Laufe eines Monats, von Mitte October bis Mitte November, 18 Fälle von Diphtherie auf 230 Schülerinnen und 115 Personen — das Dienstpersonal und dessen Familien — kamen. Von 15 Schülerinnen, die auf Grund der bakteriologischen Untersuchung mit Diphtheriebacillen isolirt wurden, erkrankten 7, was auf die Exactheit und Nützlichkeit der Untersuchung hinweist, da zweifelsohne nur wirklich Inficirte in's Lazareth übergeführt wurden, da durch die frühzeitige Isolirung der Inficirten die wahrscheinliche Weiterverbreitung der Krankheit verringert wurde und endlich eine

frühzeitige Serotherapie der Inficirten eingeleitet werden konnte. Es ist somit gerechtfertigt, anzunehmen, dass man den getroffenen Vorsichtsmaassregeln bis zu einem gewissen Grade auch das Ausbleiben von Todesfällen unter den 18 Erkrankungen zuschreiben kann. Da bei der Massenuntersuchung aller im Institut Lebenden (ca. 350 Individuen) am 2. und 3. November und später am 7. und 8. November es sich herausstellte, dass auch ein Theil des Dienstpersonales inficirt war und andererseits bei der grossen Extensität und Schnelligkeit, mit welcher die Epidemie sich weiter verbreitete, es an Räumlichkeiten für die nöthige Isolirung fehlte, so musste die Anstalt geschlossen werden.

In diesem Fall ergab die bakteriologische Untersuchung, dass die Bekämpfung der Diphtherie mit den gewöhnlichen üblichen Maassnahmen — Desinfection und Isolation der Erkrankten — vollkommen nutzlos gewesen und das Ziel bei Inficirtsein des Dienstpersonales unerreichbar geblieben war.

Im Januar 1900, also ca. 2 Monate später, kehrten die Schülerinnen in Partieen von 30 bis 40 Personen in's Institut zurück und unterlagen einer bakteriologischen Untersuchung, wobei man bei 10 virulente Diphtheriebacillen antraf. Diese letzteren wurden isolirt und aus dem Lazareth erst nach Schwund der Bacillen entlassen. Schülerinnen mit Pseudobacillen wurde der Besuch der Schule gestattet. Neue Erkrankungsfälle kamen nicht mehr vor.

In Bezug auf diese Maassnahmen sagt Prof. Filatoff (37) in seinem Lehrbuche Folgendes: „In der Praxis werden solche Massenuntersuchungen auf unüberwindliche Schwierigkeiten stossen, z. B. in grossen Pensionen und hauptsächlich auf dem Lande."

Prof. Filatoff fügt hinzu, dass die Gefahr des Inficirtwerdens auch „nicht so schrecklich ist, wie man annimmt".

Principielle Widersprüche sehen wir in dieser Begutachtung nicht, um so mehr, als der Autor selbst die Thatsache des Antreffens von wirklichen Diphtheriebacillen bei Gesunden als feststehend betrachtet und bei der Weiterverbreitung der Diphtherie dem anhaltenden Verweilen virulenter Diphtheriebacillen auf den Schleimhäuten der Reconvalescenten eine wichtige Rolle zuschreibt.

Prof. Filatoff entlässt die Reconvalescenten bei Schwund der Diphtheriebacillen noch vor Ablauf von 3 Wochen, nach dieser Frist jedoch unabhängig vom Resultat der bakteriologischen Untersuchung.

Nach dem Circulär der Medicinal-Departements in Russland werden Schüler nach überstandener Diphtherie erst nach 3 Wochen zum Schulbesuch zugelassen. Der Zusatz zu dieser Verordnung lautet: „Wenn mög-

lich nach einer bakteriologischen Untersuchung — nach Schwund der Löffler'schen Bacillen."

Dieses Circulär betrachtet also eine dreiwöchentliche Frist für nicht bindend sobald Diphtheriebacillen im Rachen länger angetroffen werden.

In der russischen Litteratur wird endlich von Dr. Jakowleff (St. Petersburg) auf Grund der bakteriologischen Untersuchung von Diphtheriekranken, Reconvalescenten, sowie auch Gesunden u. A. angeführt, dass von 245 Gesunden, die mit Diphtheriekranken in Berührung gekommen, bei 16, d. i. in 6·5 Procent, Diphtheriebacillen angetroffen wurden.

Dr. Jakowleff schliesst sich auf Grund eigener Beobachtungen, sowie der in der Litteratur niedergelegten Angaben, vollkommen den von mir gemachten Behauptungen an und bestätigt vollends, dass ohne bakteriologische Untersuchung eine erfolgreiche Bekämpfung der Diphtherie unmöglich ist.

Das sind die Thatsachen und Meinungsäusserungen der einzelnen Autoren, die ich möglichst vollständig aus der einschlägigen Litteratur zu sammeln bemüht gewesen, um zu zeigen, bis zu welchem Grade die leitende Idee in der neuen Handhabung zur Bekämpfung der Diphtherie ärztlicherseits Anerkennung und wie weit die neuen Maassnahmen praktische Verwendung gefunden. Zu welch' einer allgemeinen Schlussfolgerung berechtigt dies?

Im vorliegenden Fall stösst ein richtiger Schluss auf keinerlei Schwierigkeiten. Aerzte, Bakteriologen und Epidemiologen stimmen alle darin überein, dass Gesunde, Genesende und an Diphtherie nicht krank gewesene Individuen nicht selten Träger von virulenten Diphtheriebacillen in der Mund-, Nasen- und Rachenhöhle und die Hauptverbreiter der epidemischen Diphtherie sein können, dass als rationelle prophylaktische Maassnahmen die Desinfection und Isolirung, die nur bei bakteriologischer Controle die günstigsten Resultate ergeben, betrachtet werden müssen, und dass endlich das Erkennen des Diphtheriebacillus und die Isolirung von Gesunden zwei der grössten Schwierigkeiten sind bei der exacten und systematischen Ausführung von prophylaktischen Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie.

Betrachten wir nun diese Schwierigkeiten, da nur sie die praktische Verwendbarkeit einer rationellen Prophylaxe der Diphtherie, die auf einer bakteriologischen Untersuchung begründet, präcisiren.

Vorerst muss darauf hingewiesen werden, dass trotz aller Schwierigkeiten, welche in jeder neuen und complicirten Sache besonders markant hervortreten, die in Vorschlag gebrachten Maassnahmen, wie aus der einschlägigen Litteratur ersichtlich, erfolgreich bereits ausgeführt wurden.

Es liegt somit kein Grund vor, behaupten zu wollen, dass die Ausführung dieser Maassnahmen selbst in so bevölkerten öffentlichen Anstalten wie Kasernen, Schulen, Asylen und Pensionen unmöglich ist. Wenn man aber die Rationabilität dieser Maassnahmen vollkommen berechtigt und in einigen Fällen durchführbar, trotz der bestehenden Schwierigkeiten, anerkennt, so fragt es sich, ob wir nicht verpflichtet sind, diese prophylaktischen Maassnahmen zur Bekämpfung der Diphtherie weiter auszuarbeiten und die Schwierigkeiten möglichst zu beseitigen.

Man darf den Umstand nicht ausser Acht lassen, dass trotz des Serums und anderer therapeutischer Maassnahmen die Diphtherie dennoch viele Opfer fordert und bei uns zu Lande (Russland) die Morbidität und an einigen Orten auch die Mortalität selbst zugenommen haben. So wies Prof. Dr. Rauchfuss (38) nach, dass in Petersburg in den letzten Jahren die Morbidität um das Vierfache, die Mortalität um das Dreifache gestiegen.

In Bezug auf die erste Schwierigkeit, d. h. das Erkennen des Diphtheriebacillus, sind wir auf Grund von Beobachtungen und Untersuchungen in unserem Institut zu folgenden Schlüssen gekommen:

1. Die Cultur muss auf coagulirtem Serum aus dem Schleim der Rachen- und Nasenhöhle (besonders, wenn Schnupfen vorliegt) angelegt werden.

2. Eine einmalige Untersuchung ist für den exacten Nachweis des Vorhandenseins von Diphtheriebacillen ungenügend.

3. Ausser der üblichen Tinction muss auch die Neisser'sche, die bei positivem Resultat die Möglichkeit giebt, echte Diphtheriebacillen (virulente und nichtvirulente) sicher zu stellen, ausgeführt werden.

4. Ein vollständig negatives Resultat bei Neisser'scher Färbung von Stäbchen, die morphologisch den Diphtheriebacillen ähnlich, weist auf einen pseudodiphtheritischen Charakter derselben hin.

5. In zweifelhaften Fällen, bei sehr geringer Anzahl von Diphtheriebacillen, oder wenn durch die Neisser'sche Färbung nur sehr wenige Stäbchen tingirt werden, so entscheidet das Dilemma entweder eine wiederholte Untersuchung der betreffenden Personen oder ein Ueberimpfen in ein neues Röhrchen mit Serum, wo somit in der zweiten Generation zahlreichere Culturen von Bacillen sich einstellen und die Neisser'sche Färbung dieselben intensiver tingirt. Solch' einen Unterschied zwischen der ersten und zweiten Generation beobachteten wir einige Mal; und dies kann vielleicht durch einen geschwächten Zustand der einzelnen Keime in Folge eines Antagonismus der Bakterien und anderer physikalischer und chemischer Einflüsse, wie sie auf der Schleimhaut vorzukommen pflegen, erklärt werden.



6. Wie wenig echte Diphtheriebacillen man auch antreffen mag, und wenn dieselben bis zu einem gewissen Grade auch ihre Virulenz eingebüsst haben sollten, so unterliegen dennoch die sie beherbergenden Individuen einer Isolirung und müssen als Inficirte betrachtet werden.

7. Individuen mit Pseudodiphtheriebacillen müssen im Sinne der Weiterverbreitung der epidemischen Diphtherie als ungefährlich betrachtet werden.

Aus den angeführten Thesen ersieht man, dass wir eine wichtige Bedeutung der Neisser'schen Färbung für die Differentialdiagnose zwischen Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen beimessen, was wir um so begründeter thun, als fast alle Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt, dieselben Resultate erzielt. Zur Differenzirung des echten Diphtheriebacillus können ausser der Neisser'schen Färbung noch die saure Reaction der Zuckerbouillon, die Virulenz und das Verhalten dem specifischen Serum gegenüber herangezogen werden.

Wir glauben nicht fehl zu gehen, dass bei Anwendung dieser Untersuchungsmethode für das Erkennen der Diphtheriebacillen viele Fälle mit Bacillen heut zu Tage nicht isolirt werden, welche von früheren Autoren als Diphtheriebacillen angenommen wurden und somit die Durchführung des Isolirens gesunder Individuen bei weitem erleichtert wird.

Die Exactheit, mit welcher die bakteriologische Diagnose gestellt werden kann, gestattet eine auf der letzteren begründete Handhabung dieser praktischen Maassnahmen. Ausserdem haben Beobachtungen ergeben, dass bei diesem uncomplicirten technischen Untersuchungsverfahren ein hierin erfahrener Arzt im Laufe von 24 Stunden ohne Anstrengung bis zu 50 Individuen bakteriologisch untersuchen kann, selbst wenn man von jedem einzelnen zwei Röhrchen mit Culturen beschickt und aus einer jeden von ihr zwei mikroskopische Präparate anfertigt. Bei Massenuntersuchungen ist selbstverständlich der Kostenpreis bei weitem geringer, was in praktischer Beziehung ebenfalls nicht unberücksichtigt bleiben darf. Da aber eine absolute Garantie unmöglich ist, dass alle Fälle mit geringen echten Diphtheriebacillen durch diese Methode sichergestellt werden können, so ist der Einwurf berechtigt, ob es sich auch lohnt, die Isolirung vorzunehmen, wenn Diphtheriebacillen vielleicht nicht gefunden werden können, oder die Möglichkeit vorhanden ist, eine Pseudodiphtherie- für eine echte Diphtheriecultur anzunehmen. Solch' ein Uebersehen ist selbstverständlich nicht erwünscht, kann aber dessen ungeachtet die bakteriologische Untersuchung nicht entwerthen, da die letztere jedenfalls ein sicheres Mittel giebt, die Weiterverbreitung einer Epidemie bei weitem einzudämmen und eine rechtzeitige Serotherapie der Isolirten und Erkrankten gestattet. Wir wollen durchaus nicht die Bedeutung und Rolle



der Diphtheriebacillen bei Gesunden unterschätzen, andererseits aber die Gefahr, welche dieser Umstand mit sich bringt, auch nicht übertreiben. In praktischer Beziehung ist es lange nicht einerlei, ob auf 100 Personen 10 bis 20 oder nur 1 bis 2 mit Diphtherie Behaftete kommen; es ist nämlich zur Genüge bekannt, dass nicht nur die Qualität, sondern auch die Quantität des inficirenden Agens das Schicksal der Infection und Epidemie entscheidet. Uebrigens ist das angeführte Beispiel nur Eventualität und nicht Regel. So ist man z. B. auf Grund der Thatsache, dass Isoliren und Desinfection nicht in allen Fällen ihren Zweck erreichen, absolut nicht zum Schluss berechtigt, dass man ihre Anwendung selbst unter den obwaltenden Umständen unterlassen müsse.

Die Hauptschwierigkeit in der Durchführung der bakteriologischen Prophylaxe während einer Diphtherieepidemie gipfelt nicht in der Diagnose, sondern in dem Umstande, dass virulente Diphtheriebacillen bei Gesunden und Reconvalescenten zuweilen im Laufe von vielen Monaten mit einer ungewöhnlichen Hartnäckigkeit sich halten. Alle bisher verwandten Desinfectionsmittel, selbst die stärksten unter ihnen, z. B. das Sublimat vermindern zwar die Zahl der Keime in loco wohin sie gelangen und können das Verschwinden der Diphtheriebacillen beschleunigen, doch kann man nicht immer sicher sein, dass sie rasch genug verschwinden, da an einigen Stellen der Schleimhäute des Rachens und der Nase (in den Seitenhöhlen) die Vermehrung der Bacillen unbehindert fortdauern kann. Durch eine Ausarbeitung der Desinfectionstechnik der Schleimhäute gegenüber der Diphtherie müsste die Bekämpfung der Diphtherieepidemieen bedeutend erleichtert werden.

Es bleibt somit in voller Kraft die Frage, was zu thun ist, wenn bei einigen Reconvalescenten und Gesunden Diphtheriebacillen Monate lang zurückbleiben und ein weiteres Isoliren aus öconomischen und socialen Gründen unmöglich wird.

Wenn das Isoliren sich nicht durchführen lässt und die daran interessirten Personen auf dasselbe nicht eingehen wollen, so bleibt natürlich nichts übrig, als von einer vollkommenen Anwendung dieser Maassnahmen abzusehen, hieraus folgt jedoch nicht, diese Mittel da zu unterlassen, wo sie ausführbar und zwar in dem Maasse, wie nur möglich.

Selbst wenn ein vollständiges prophylaktisches Isoliren, besonders von Erwachsenen, unmöglich, so gestattet die bakteriologische Untersuchung, welche die Quelle der Infection aufdeckt, denjenigen, die wenigstens bedingte Maassnahmen der eigenen Familie und der Gesellschaft gegenüber durchzuführen wünschen, die nöthigen Mittel. Das Anwenden von desinficirenden Gurgelwässern, das sorgfältige, für die Umgebung unschädliche Vernichten der Excrete aus Mund und Nase, besonderes Geschirr u. s. w.



kann bis zu einem gewissen Grade die Gefahr der Weiterverschleppung der Infection herabstimmen. In einem der anhangsweise weiter folgenden Circuläre des New-Yorker Gesundheitsamtes finden sich ausführlichere Hinweise über die Art und Weise der Uebertragung von Diphtherie, aus welchen ersichtlich, wie man die Umgebung vor einem Inficirtwerden schützen kann, wenn ein Isoliren unmöglich.

Lungentuberculöse, die mehr oder weniger intelligent und denen die Gefahr für alle Anderen wohl bewusst, beobachten gewisse Vorsichtsmaassregeln, und wie wohl bekannt, strebt die Gesellschaft, der Tuberculose gegenüber im grossen Maassstabe prophylaktische Maassnahmen zur Verminderung und Vernichtung der Infectionsherde anzuwenden. Heut zu Tage muss in Bezug auf die Diphtherie dieselbe Frage auf die Tagesordnung kommen. Die Bakteriologie hat uns gelehrt, wie und wo das Diphtherieagens nachgewiesen werden kann, wie auch, dass Gesunde, Reconvalescenten oder an Diphtherie Nichterkrankte einen tückischen Herd für die Infection und eine der Hauptursachen der epidemischen Weiterverbreitung der Diphtherie abgeben. Nur durch eine ausgiebigere Verwendung der bakteriologischen Untersuchung wird die Prophylaxe der Diphtherie rational begründet sein und die besten Resultate bei Bekämpfung der Diphtherieepidemieen ergeben.

Die prophylaktischen Maassnahmen zur Bekämpfung der epidemischen Diphtherie, welche auf bakteriologischer Grundlage beruhen, sind von mir in Thesen bereits formulirt worden.[1]

Berücksichtigt man die oben angeführten Litteraturangaben über diese Frage, so liessen sich diese Thesen in etwas veränderter und ergänzter Form, wobei Alles speciell Russland Betreffende weggelassen, wie folgt formuliren:

1. Die bakteriologische Untersuchung des Schleims aus der Mund-, Rachen- und Nasenhöhle soll nicht nur behufs diagnostischer Zwecke an Erkrankten, sondern auch aus prophylaktischen Gründen an von Diphtherie Genesenden, sowie an Gesunden, die in diphtheritischen Herden sich aufhalten und einer Infection durch dieselben ausgesetzt gewesen sein konnten, angestellt werden.

2. Inficirte Individuen unterliegen, unabhängig von ihrem vollständigen Wohlsein, denselben prophylaktischen Maassnahmen (Isolirung und Desinfection), wie Diphtheriekranke. Wo ein vollständiges Isoliren unmöglich, müssen diejenigen Maassnahmen, welche wenigstens das Weiterverbreiten der Infection (besonderes Geschirr, systematisches und ungefähr-

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Bd. XXVI. Nr. 16/17.



liches Vernichten der Excrete aus Nase und Mund, Desinfection der Schleimhäute u. s. w.) beschränken, angewandt werden.

3. Diphtheriekranke dürfen nach erfolgter Genesung aus den Hospitälern nicht vor Schwund der Diphtheriebacillen von den Schleimhäuten entlassen werden. Wenn in den Hospitälern Platzmangel das Durchführen diese Maassnahme nicht gestattet oder die Eltern und Anstalten die Entlassung ihrer Kinder und Zöglinge vor Schwund der Diphtheriebacillen fordern, so sollen Eltern und Anstalten über die drohende Gefahr der Weiterverbreitung der Infection in Kenntniss gesetzt und ihnen gedruckte Instructionen über Vorsichtsmaassregeln eingehändigt werden. Bei Platzmangel in den Hospitälern sollten Asyle für genesende Kinder, sowie auch für Gesunde, welche in Diphtherieherden inficirt sind, errichtet werden.

4. In den Kinderhospitälern müssen auf Diphtheriebacillen alle Kinder, besonders von Masern, Scharlach und Tuberculose behaftete, untersucht werden.

5. In Schulen, Asylen, Pensionen und Familien, wo Diphtherie aufgetreten, soll eine Massenuntersuchung der Rachen- und Nasenhöhle ausgeführt und alle Inficirten im Verlaufe einer durch die bakteriologische Untersuchung festgesetzten Frist isolirt werden.

6. Bei der Desinfection der Wohnräume und Sachen muss das Resultat der bakteriologischen Untersuchung sowohl der Reconvalescenten, als auch der in Diphtherieherden Wohnenden berücksichtigt werden.

Anhang.

Nr. 1.

Health Department of the City of New York.
Criminal court building.

Regulations regarding the isolation of cases of diphtheria in privat houses.

In private houses the duration of isolation of cases of diphtheria after apparent complete convalescence of such cases shall be determined by the physician in attendance, with the following conditions:

First. Children convalescent from diphtheria shall not be allowed under any conditions to attend any kind of school, i. e., day school, sunday school, dancing school etc., until cultures show the absence of diphtheria bacilli from the throat.

Second. Circulars of informations regarding the persistence of virulent diphtheria bacilli in the throats of convalescent cases of diphtheria and the



dangers from infections arising from such cases shall be furnished by the Health Department and presented by the attending physician, if the patient is a child, to the mother, father or guardian, or, if the patient is an adult, to the patient, and the meaning of the circular and the significance of its contents explained to them.

Third. The attending physician, when continued isolation is not maintained, shall immediately notify in writing the Chief Inspector of contagious diseases of the Health Department, of his action, and desinfection of the premises may them be performed by the Health Department.

Exceptions to this rule regarding the time of isolation of convalescent cases of diphtheria in private houses shall be:

1. Teachers of all kinds.

2. Persons whose occupations bring them into immediate contact with children.

For the special regulations of the Health Department regarding the isolation of cases of diphtheria in boarding houses, apartment houses and hotels, application should be made to the Chief Inspector of contagious diseases.

George B. Fowler, M.D.,
Commissioner of Health.

By order of the Board of Health.

Emmons Clark, Secretary. Charles G. Wilson, President.

Nr. 2.

Health Department of the City of New York.
Criminal court building.

Circular of information regarding the danger of diphtheria being communicated to others by persons who have recovered from the disease.

Diphtheria is due to a germ known as the diphtheria bacillus. This germ is present in the membrane and in the secretions of the mouth, nose and throat of cases of diphtheria. The disease is produced by the reception of the germs into the mouth or nose of well persons.

The discharges from the nose and mouth of cases of diphtheria containing these germs, may be received on handkerchiefs, towels. bedclothing, carpets, rugs, personal clothing, toys, books etc., may dry, become pulverised and breathed in as dust, or the germs may be transmitted directly from the sick to the well through personal contact, as in kissing the sick, and in the use of drinking cups or eating utensils which have been employed by the sick, or through the direct discharge of the secretions on to the hands, face or clothing of the nurse, physician or attendat while making applications to the nose or throat of the sick person. Thus, in numerous ways the germs find their way from the throat of the sick to the mouth or air passages of the well, and if then the conditions are favorable for the develop-



ment of diphtheria in the throat of the person receiving them, after a varying period the disease is produced.

Diphtheria only follows the reception of the germs in the throat if favorable conditions for their growth exist there. In many cases the germs remain for many days, and increase in number, in the throats of healthy persons who have been in contact with cases of diphtheria, without producing the disease. Well persons who have these germs in their throats may convey them to others, who contract the disease, while they themselves escape.

During convalescence from diphtheria the germs of this disease often persist in the throat for many days after all signs of disease in the throat have disappeared, and after the individual is entirely well. Investigations show that in about twenty-five per cent. of cases they persist for three weeks or longer after the beginning of the disease, in fifteen per cent for four weeks or longer, in five per cent for five weecks and occasionally even for a much longer time. Experiments have shown that almost invariably these germs are virulent and capable of inducing the disease in others, so long as they persist in the throat, and persons having such germs in their throats may convey the disease to other persons at any time. Observation, however, has proven that the chances of communication of the disease in well persons after complete convalescence are not great, excepting among children, who are far more succeptible to the disease and who are much more likely to become infected through the frequent introduction of infected articles into the mouth.

The danger of communicating the disease to others after recovery while the bacilli persist, is less than during the disease, because the number of germs is smaller, the secretions less abundant and not as likely to be discharged where they will gain entrance to the mouths and throats of other persons. When persons do not remain completely isolated as they are strongly advised to do-until cultures made from the throat show the absence of the diphtheria bacilli-they should constantly remember the facts set forth in this circular, and use every precaution to prevent the communication of the disease through the secretions which incite the disease, and should be particulary careful in the relations and contact with children.

No child, convalescent from diphtheria, will be allowed to return to school or to attend any assembly of children until diphtheria bacilli are no longer present in the throat, and no person engaged in teaching or in caring for children, who is convalescent from diphtheria, will be allowed to resume his or her occupation until the bacilli are no longer present in the throat.

George B. Fowler, M.D.
Commissioner of Health.

By order of the Board of Health,

Emmons Clark,
Secretary.

Charles C. Wilson,
President.



Litteratur-Verzeichniss.

1. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1890. Nr. 46.

2. *Correspondenzblatt für Schweizer Aerzte.* 1893. Bd. XXIII. — Ref. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XIV.

3. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XVI.

4. *The American Journal of the med sciences.* October 1894. — Citirt nach C. Fraenkel.

5. *British med. Journal.* 1894. Vol. II. p. 360.

6. *Diese Zeitschrift.* Bd. XVII.

7. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1894. Nr. 47.

8. *Ebenda.* 1895. Nr. 22.

9. *Revue d'hygiène et de police sanitaire.* T. XV. p. 241.

10. *Diese Zeitschrift.* Bd. XIX.

11. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. Nr. 10. S. 68.

12. *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* Hft. 1.

13. *British med. Journal.* 1896. Nr. 1831.

14. *Allgemeine u. specielle Therapie für Kinderkrankheiten.* 1896. (Russisch.)

15. *Bost. med. and surg. Journal.* 3. Dec. 1896. Vol. CXXXV. — Ref. *Hygien. Rundschau.* 1897. Nr. 19.

16. *Deutsche Vierteljahrsschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1897. Bd. XXIX.

17. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. Nr. 35—38.

18. *Semaine médicale.* 1895. Nr. 63.

19. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVI.

20. *The Lancet.* 23. Oct. 1897. — Ref. *Centralblatt für Bakteriol.* Bd. XXIV. Nr. 10.

21. *Semaine médicale.* 1897. Nr. 46.

22. *Revue de médécine.* Janvier 1898. — Ref. *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 15.

23 *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 36.

24. *Ebenda.* 1898. Nr. 6.

25. *Kinderheilkunde.* 1898. Nr. 1. (Russisch.)

26. *Brit. med. Journ.* 1898. Nr. 1946. — *Hygien. Rundschau.* 1898. Nr. 19.

27. *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXIX.

28. *Ergebnisse der allgem. Pathologie.* 1897. Jahrg. IV.

29. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXI.

30. Die Epidemiologie. Weyl's *Handbuch der Hygiene.* 1899. Bd. XXXVII.



31. *Revue d'hygiène et de police. sanitaire.* 1899. T. XXI. Nr. 2.

32. *British med. Journal.* 15. April 1899. — Ref. *Hygien. Rundschau.* 1900. Nr. 7.

33. *Norsk Magozin for Lægevidenskaben.* 1900. Nr. 2.

34. *Edinbourgh med. Journal.* Juni 1900.

35. *Archives russes de pathologie.* 1899. T. VII. — Autorreferat *Centralblatt f. Bakteriologie.* Bd. XXVI. Nr. 17/17.

36. *Wratsch.* 1900. Nr. 14. (Russisch.)

37. *Vorlesungen über acute Infectionskrankheiten der Kinder.* 1899. (Russisch.)

38. *Wratsch.* 1899. (Russisch.) — *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVI. Nr. 16/17.



Beitrag zur Lehre von der Sporenbildung bei Cholerabacillen.

Von

Dr. **Bliesener,**
Oberstabsarzt in Schweidnitz.

Vor längerer Zeit hatte ich Gelegenheit, einige Beobachtungen zu machen, die die Frage der Sporenbildung bei Cholerabacillen näher angehen. Ich war mit Versuchen betreffend die Herstellung keimfreien Trinkwassers durch Zusatz von chemischen Stoffen beschäftigt, und hatte deshalb stark verunreinigtes Bachwasser, welches einen grossen Theil sämmtlicher Verunreinigungen einer ländlichen, grösseren Ortschaft aufnimmt, nachdem es filtrirt und zu etwa 20 ccm in sterilisirte Reagensgläschen gefüllt war, durch discontinuirliche Sterilisation im Dampftopf keimfrei gemacht.

Derart hatte ich mir eine grössere Zahl Gläschen hergestellt, die mit sterilen Wattepfropfen und in Sublimatlösung desinficirten Gummikappen verschlossen wurden.

Die chemische Untersuchung dieses Wassers vor der Sterilisation hatte folgendes Ergebniss:

Gesammthärte	7·8
Bleibende Härte	2·7.

In 100 000 Theilen des Wassers waren enthalten:

Chlor	2·11
Schwefelsäure	4·8
Salpetersäure	0·38
Salpetrige Säure	Spur
Ammoniak	Spur
Verbrauch von Chamäleonlösung	1·99.



Eins dieser Reagensgläschen wurde mit einer Platinöse einer Reincultur des Cholerabacillus in Bouillon geimpft. Diese Reincultur stammte aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin; ein Zweifel an der Zuverlässigkeit der Cultur kann nicht bestehen, da die Echtheit durch vielfache Untersuchungen festgestellt war.

Von dem mit Cholerabacillen geimpften Reagensgläschen mit dem Bachwasser wurden nun die übrigen Reagensgläschen geimpft. Eine Aenderung des Gehalts an organischer Substanz durch Uebertragung von geringen Mengen von Bouillon kann demnach als ausgeschlossen gelten.

In sämmtlichen geimpften Gläschen trat, wie durch Gelatineplatten-Cultur nachgewiesen wurde, eine sehr starke Vermehrung der Cholerabacillen ein; zu einer Trübung des klaren, leicht gelblich gefärbten Wassers kam es aber nicht. Nach Beendigung der ursprünglichen Versuche blieben einige der mit Cholera geimpften Reagensgläschen, die nicht benutzt worden waren, übrig; von Zeit zu Zeit prüfte ich durch die Gelatineplatte, ob die Cholerabacillen noch erhalten waren; im Laufe der Monate nahm das Wasser allmählich durch Verdunstung ab, so dass die ursprüngliche Lösung organischer Körper u. s. w. erheblich concentrirt wurde.

Vom 376. Tage ab, als schon die Eintrocknung der Gläschen ziemlich weit vorgeschritten war, wurde ein hellröthlicher, flockiger Niederschlag bemerkt, der allmählich stärker wurde. Derselbe enthielt zahlreiche, ovale, stark lichtbrechende, unbewegliche, glänzende Körperchen, welche gewöhnliche Anilinfarben nicht annahmen und den unverkennbaren Eindruck von Sporen machten. Sie nahmen Sporenfärbung, sowohl mit Carbolfuchsin und nachfolgender Entfärbung mit verdünnter Schwefelsäure, wie nach Möller'scher Methode gut an. Andere Bakterienformen, insbesondere die bekannten Involutionsformen des Cholerabacillus waren, wie zahlreiche gefärbte Ausstrichpräparate bewiesen, nicht vorhanden, dagegen fanden sich zahlreiche prismatische Krystalle unbekannter Zusammensetzung. Gelatineplatten, die mit einer Oese dieses röthlichen Bodensatzes gegossen wurden, ergaben stets eine Reincultur von Cholerabacillen.

Da somit die Wahrscheinlichkeit vorlag, dass es sich um die Sporen von Cholerabacillen handelte, so wurde nun auf einem sterilen Deckgläschen ein hängender Gelatinetropfen angelegt, der mit dem röthlichen Bodensatz geimpft wurde. Derselbe wurde unter dem Mikroskop (Zeiss'scher Apochromat, homogene Immersion $^1/_{12}$) so eingestellt, dass eine Gruppe der Sporen in der erstarrten Gelatine scharf sichtbar war. Die Wärme des Zimmers wurde durch Heizen auf 20 bis 23° C. gehalten. Nach $2^1/_2$ Stunden trat eine Verminderung des Lichtbrechungsvermögens ein, nach 4 Stunden erschienen die Körperchen etwas verlängert. Nach 6 Stunden hatte sich aus dem Häufchen sporenartiger Körperchen ein



Häufchen kleiner unbeweglicher Bacillen, von der Form der Cholerabacillen entwickelt. Nunmehr wurde der hängende Gelatinetropfen vorsichtig verflüssigt und damit einerseits Gelatineplatten mit zwei Verdünnungen gegossen, andererseits gefärbte Ausstrichpräparate hergestellt. Das Ergebniss war, dass sowohl in den Gelatineplatten wie in den Ausstrichpräparaten sich eine Reincultur von Bacillen vorfand, die jeder Beobachter für Cholerabacillen halten musste; spätere Untersuchungen auf Choleraroth, mit Gelatineplatten u. s. w. bestätigten diese Annahme. Liess man den hängenden Gelatinetropfen länger liegen, so trat allmählich eine Verflüssigung der Gelatine ein. Die Bacillen wurden beweglich, zahlreicher und auf der alsdann gegossenen Gelatineplatte erschienen um so zahlreichere Choleracolonieen. Diese Versuche wurden vielfach stets mit demselben Erfolge wiederholt, bis die Reagensgläschen völlig eingetrocknet waren. Dies geschah nach dem 878. Tage seit der erfolgten Impfung der frisch mit Bachwasser gefüllten Gläschen mit Cholera. Stets konnten auf die beschriebene Art Körperchen von dem Verhalten von Sporen nachgewiesen werden, stets konnten, so lange Verunreinigungen ausblieben, aus dem hängenden Tropfen, der die Körperchen enthielt, durch die Platte Reinculturen von Cholerabacillen erzielt werden. Allmählich aber stellten sich, augenscheinlich in Folge der wiederholten Oeffnung der Gläschen, Verunreinigungen ein. So wurde von dem 573. Tage ab ein grosser Coccus nachgewiesen, der grosse, runde, tief dunkelgraue, die Gelatine nicht verflüssigende Colonieen hatte. Am 759. Tage wurde ein kurzer, dicker, die Gelatine nicht verflüssigender Bacillus gefunden, am 878. Tage wurde Penicillium glaucum auf der Platte erzielt; trotzdem fanden sich stets die früher beobachteten sporenartigen Körperchen vor und auf der Platte unzweifelhafte Choleracolonieen.

Wenige Tage später war auch der letzte Rest Flüssigkeit verdunstet und die Beobachtung hatte damit ihr Ende.

Es wäre nun von Interesse gewesen, festzustellen, welche weiteren Eigenschaften die etwa ein Jahr nach der Impfung zuerst auftretenden sporenartigen Körperchen besassen.

Bekanntlich dient die Sporenbildung bei Bakterien zur Erhaltung der Art unter widrigen Ernährungsverhältnissen. Dass diese Verhältnisse in den Reagensgläschen bei fortschreitender Eintrocknung ungünstig waren, ergiebt die Ueberlegung, dass die Menge der vorhandenen Nährstoffe in Folge der starken Vermehrung der Cholerabacillen nach der Impfung und bei dem ausserordentlich langen Bestehen der Reincultur (mindestens 376 Tage) aufgebraucht sein musste, so dass eine weitere Bildung der vegetativen Formen der Cholerabacillen schliesslich zur Unmöglichkeit wurde.

Die Menge des mir zu Gebote stehenden Materials war aber nach den mannigfachen Versuchen eine so geringe, dass sich weitere ausgiebige Versuche über die Eigenschaften der gefundenen sporenartigen Körperchen nicht ausführen liessen. Es konnte festgestellt werden, dass diese Körper keinen wesentlich höheren Widerstand gegen Austrocknung besassen, als Cholerabacillen. Längstens 8 Stunden nach Beginn völliger Trockne, war die Entwickelungsfähigkeit geschwunden. In sterilem Wasser aufgeschwemmt, wurden sie im Wasserbade von 50° C. bei $^1/_2$ stündiger Dauer abgetödet, wie die Cholerabacillen auch.

Dagegen schienen sie gegenüber der Wirkung fremder Bakterienarten eine grössere Widerstandskraft zu besitzen als Cholerabacillen, doch konnte dieser Punkt aus Mangel an Material nicht genügend klar gelegt werden.

Es ist also gelungen, den Cholerakeim in Wasser bis zu 878 Tagen lebensfähig zu erhalten. Etwa 1 Jahr nach erfolgter Impfung des durch die Abfälle des gewöhnlichen Lebens stark verunreinigten sterilisirten Wassers traten Körperchen auf, die man aus manchen Gründen wohl für Cholerasporen halten darf. Diese hielten sich noch 305 Tage, nachdem eine andere Bakterienart, 89 Tage lang, nachdem eine zweite Bakterienart sich angesiedelt hatte, lebensfähig.

Nun sprechen vielfache Thatsachen, namentlich das Ueberwintern der Cholera, das plötzliche Wiederauftreten der Cholera an Orten, wo sie scheinbar erloschen war, dafür, dass auch dem Cholerabacillus gewisse Dauerformen zukommen. Es wäre nicht unmöglich, dass diese Dauerformen mit den von mir beobachteten sporenartigen Körperchen identisch sind, d. h., dass die von mir beobachteten Formen wirkliche Sporen des Cholerabacillus sind. Vielleicht verbreiten weitere Untersuchungen mehr Licht über diese so wichtige Angelegenheit.

[Aus dem hygienischen Untersuchungsamte der Stadt Danzig.]
(Director: Dr. Petruschky.)

Weitere Beobachtungen über die „Widal'sche Reaction" bei Abdominaltyphus.

Von

Dr. Wilh. Koelzer,
früher Assistent des Untersuchungsamtes.

Ueber Werth und Unwerth der sogen. „Widal'schen Reaction" für die Typhusdiagnose ist allmählich eine ansehnliche nur schwer übersehbare Litteratur erwachsen; ein Zeichen, wie wenig es geglückt war, die ganze Frage mit einem dogmatischen Satze, mit wenigen Schlagworten zu lösen. Jede Arbeit brachte einen Schritt vorwärts, und aus der Summe aller Arbeiten ist nunmehr eine Klärung der Meinungen hervorgegangen; das fast allgemein jetzt bestehende Urtheil lässt sich in folgenden Sätzen wiedergeben:

Die Hoffnung, in der Reaction ein absolut sicheres, für sich schon entscheidendes Mittel zur Frühdiagnose des Typhus zu haben, hat sich leider nicht erfüllt. Die Reaction kann in der ersten Woche schon da sein, nur zu oft tritt sie aber erst dann ein, wenn die klinische Diagnose schon vollkommen entschieden ist, ja häufig erst in der Reconvalescenz, wenn man sie also gar nicht mehr braucht. Andererseits besteht aber die Thatsache von hoher Wichtigkeit, dass der positive Ausfall in Verdünnung 1:50 die Diagnose — von seltensten Ausnahmen abgesehen — sicherstellt. Die Reaction bleibt also ein sehr wichtiges diagnostisches Hülfsmittel und hat sich als solches in zahlreichen Fällen bewährt, bei denen die klinische Diagnose noch im Stich liess. Ein negatives Resultat lässt keinen Schluss zu. Die Anstellung der Reaction erfordert Cautelen: Die Typhuscultur darf nicht über 24 Stunden alt, muss gut virulent, auf gutem Nährboden gezüchtet und gut beweglich sein; die Beobachtungszeit soll nicht über 2 Stunden ausgedehnt werden; die Agglutination und

Paralyse soll so vollkommen sein, dass überhaupt kein schwimmender Bacillus mehr gesehen wird; ferner soll Controle durch normales Serum stattfinden; von grösster Wichtigkeit aber ist die Verdünnung: die untere Grenze soll 1:25 bis 1:33 sein; da aber ab und zu bei dieser Verdünnung auch normales Serum positive Reaction gab, so soll zugleich dann der Ausfall bei Verdünnung 1:50 geprüft werden.

Vom 1. Juli 1899 bis 1. Juli 1900 nun wies das Danziger städtische Lazareth (San.-Rath Dr. Freymut) ein reiches Typhusmaterial auf. Unser Institut — es befindet sich auf dem Gelände des Krankenhauses — hatte reichlich Gelegenheit, die Widal'sche Reaction zu erproben.

Die Reaction wurde 96 Mal gemacht, und zwar bei den beobachteten 32 Fällen von Typhus im Ganzen 75 Mal (bei den meisten aber öfter wiederholt), die übrigen 21 Mal je 1 Mal bei 21 Controlfällen anderer Erkrankung.

Von den 32 Typhusfällen sind 12 durch den Nachweis der Typhusbacillen gestützt, einer (der Originalität wegen angeführt) hatte vor 7 Jahren Typhus überstanden, die übrigen 19 waren klinisch zweifellose Typhen, der Bacillennachweis ist jedoch (bei einigen zwar versucht, aber) nicht erbracht worden, weil andere Aufgaben eine so intensive Beschäftigung mit einem einzelnen Fall nicht gestatteten. Ich betone, dass diese Fälle unzweifelhaft waren; da sie Interessantes boten, wäre es unrecht gewesen, sie nicht zu verwerthen. Die 21 Controlfälle waren absolut sicher keine Typhen, auch liess sich anamnestisch nirgends ein Anhalt für eine früher überstandene Typhuserkrankung ermitteln.

Wenn wir nun die aus unseren Beobachtungen gewonnenen Resultate in einem kurzen Satze ausdrücken müssten, so würden wir sagen, dass wir die oben aufgestellten Sätze, welche die jetzt fast allgemein herrschende Auffassung darstellen, im Wesentlichen durchaus als zutreffend erkannt haben. Wenn wir gleichwohl die untersuchten Fälle sehr eingehend analysirt besprechen werden, so geschieht dies nicht allein, um das früher Errungene recht beweiskräftig zu stützen, als auch deshalb, weil wir einige Beobachtungen hervorheben möchten, welche unseres Erachtens von theoretischer sowohl wie praktischer Bedeutung sind. Ich werde darauf zurückkommen.

Was die Technik der Untersuchung am Danziger Institute betrifft, so ist dieselbe von Hrn. Dr. Fischer[1], früher Assistent des Instituts, sehr eingehend besprochen worden. Kurz wiederholt: Es werden genau 0·1 ccm des abgesetzten Serums (Blut durch Venaepunction entnommen) zu 2·5 bezw. 5·0 (bei 1 : 25 bezw. 1 : 50) Bouillonaufschwemmung

[1] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXII.



einer 12 bis 24 stündigen Typhus-Agarcultur zugesetzt. Hängender Tropfen sofort und nach 2 Stunden; zugleich makroskopische Beobachtung. Für die Mittheilung „negativ" genügte die Reaction 1:25, das Urtheil „positiv" wurde durch den Ausfall der Reaction 1:50 gestützt.

Wir möchten betonen, dass wir gleich anderen Autoren die mikroskopische Reaction für feiner halten, weil wir nicht selten makroskopisch ein positives Resultat sahen, während dann mikroskopisch noch, wenn auch vereinzelt, schwimmende Bacillen gesehen wurden; dagegen haben wir (entgegen einigen Angaben) stets bei mikroskopisch positivem Befund auch makroskopisch die Reaction positiv gefunden.

Alle verlangten Cautelen wurden erfüllt (vgl. oben). Bezüglich der Virulenz stützten wir uns besonders darauf, dass wir durchschnittlich alle 14 Tage eine frische, aus dem menschlichen Körper gezüchtete Cultur hatten; eine stete Bestimmung des Virulenztiters war bei dem grossen Material unmöglich. Die gute Beweglichkeit wurde stets vor dem Serumzusatz festgestellt.

Bei der mikroskopischen Beobachtung fiel uns nun bald auf, dass der positive sowohl wie der negative Ausfall durchaus nicht immer ein scharf begrenztes einheitliches Bild gab, sondern dass feinere, aber sehr deutlich erkennbare Uebergangsformen sehr häufig waren. Auf diese feineren Unterschiede ist auch schon in der Litteratur oft hingewiesen worden. Wir beschlossen, diese Bilder stets genau zu protocolliren und erlangten hierdurch einige Vortheile, auf die ich bald näher eingehen werde. Es zeigten sich im mikroskopischen Bilde vier Typen, von deren ausserordentlicher Häufigkeit sich jeder bei der Durchsicht der genauen Protocolle unserer Fälle bald überzeugen wird:

1. Es trat keine Spur von Agglutination oder Paralyse ein. Alle Bacillen schwammen genau so, wie vor dem Serumzusatz: eine vollkommen negative Reaction. (Nach 2 Stunden dasselbe Bild oder eventuell Uebergang in den Typus 2, sehr selten in den positiven Typus 3 oder 4.)

2. Es zeigte sich eine starke Beeinflussung, d. h. es waren zahlreiche Agglutinationen vorhanden, aber dazwischen wurden noch in grösserer oder geringerer Zahl schwimmende Bacillen gefunden; auch dieser Ausfall musste, falls das Bild nach 2 Stunden genau dasselbe blieb, nach den angegebenen anerkannten Cautelen als negativ bezeichnet werden (dieser Zustand ging nach 2 Stunden manchmal in den Typus 3 oder 4 über).

3. Die Agglutination trat einwandsfrei ein, es war auch bei grösster Sorgfalt kein schwimmender Bacillus mehr zu entdecken, aber sowohl innerhalb der Agglutinationen als auch bei vereinzelt liegenden Bacillen



zeigten mehr oder weniger zahlreich (oft 20 und mehr im Gesichtsfeld) und in sehr wechselnder Intensität Drehungen der Bacillen um ihre Axe: Agglutination und aufgehobene Locomotion bei unvollkommener Paralyse. Dieser Ausfall wurde, weil den Cautelen nicht widersprechend, als positiv bezeichnet (der Zustand ging oft in den 4. Typus über).

4. Die Agglutination und Paralyse war vollkommen, es wurden weder schwimmende Bacillen noch Axendrehungen beobachtet: also eine vollkommen positive Reaction.

Durch diese genaue Protocollirung und nachher durch den Vergleich der Protocolle bei ein und demselben Fall, bei dem die Reaction häufig wiederholt war, konnte oft die interessante Beobachtung constatirt werden, dass ein allmähliches staffelförmiges Ansteigen der Agglutinationsfähigkeit in dem Sinne, dass die zuerst negative Reaction beim 2. Male das Bild des 2. Typus gab, um nach Tagen oder Wochen positiv (im Typus 3 oder 4) zu werden, oder auch ein ebensolches Absinken der Reaction in umgekehrter Reihenfolge (von Typus 4 nach Typus 1 zu) stattfand. Die Agglutinationsfähigkeit zeigte, wenn man so sagen kann, eine Curve (die zur Fiebercurve aber absolut keine Beziehung hatte).[1]

Als weit wichtiger aber, und, wie wir sehen werden, von praktischer Bedeutung erkannten wir die Thatsache, dass in vielen Fällen die „officiell" als „negativ" zu bezeichnende Reaction (2. Typus): viele Agglutinationen, aber einige schwimmende Bacillen, weiter nichts war als der Vorläufer der vollkommen positiven Reaction. Als gutes Beispiel nenne ich Fall IV, bei dem die am 21. Juni so zweifelhaft ausgefallene Reaction 2 Tage später, am 23. Juni, vollkommen positiv war; vergl. ferner die Fälle V, XV, XVI, XVII und XX. Es wurde uns klar, dass in diesen Fällen die officielle Mittheilung „negativ" nicht das richtige traf, und wir hätten gerne, namentlich wenn bereits vorher ein Mal die Reaction bei demselben Falle vollkommen negativ (ohne jede Beeinflussung) war, der Mittheilung eine andere Ausdrucksform gegeben, um dadurch die Beeinflussung und gewissermaassen einen Typhus-Verdacht auszusprechen. Es schien uns dies praktisch um so wichtiger in den Fällen, in denen das Blut dem Institut nur ein einziges Mal zur Anstellung der Reaction geschickt wird, und der Arzt sich mithin nur auf eine einmalige Mittheilung stützen kann.

Dazu kam nun noch, dass wir in unseren sämmtlichen 21 Controlfällen kein einziges Mal auch nur die geringste Beeinflussung (weder den 2. Typus noch ein positives Resultat) sahen, während anderer-

[1] Vgl. die Arbeiten Courmonts über: „La courbe agglutinante". *Revue de médécine.* 1897. Nr. 10. — *Comptes rendus.* 1897.



seits bei den Typhusfällen jene Beeinflussung (Typus 2) sich dann nicht nur bei 1 : 25, sondern auch bei Verdünnung 1 : 50 zeigte! (Vgl. besonders Fall I, ferner Fall XIV und XVIII.) Ueberhaupt besteht zwischen dem Ausfall 1:25 und dem 1:50 nur ein geringer gradueller Unterschied, wie zahlreiche Beispiele in den genauen Protocollen beweisen. Das Resultat bei unseren Controlfällen mag durch Zufall so günstig gewesen sein, aber auch nach den Litteraturangaben ist doch ein positives Resultat 1 : 25 mit normalem Serum nicht häufig genug, um eine vollständige Nichtberücksichtigung jener Beeinflussung (Typus 2), besonders, wenn gestützt durch den Befund 1 : 50, zu rechtfertigen. Der Schaden würde grösser sein als der Nutzen, zumal wenn nun die Thatsache hinzukommt, dass diese zweifelhafte Reaction sich oft nur als der Vorläufer der vollkommen positiven erweist. Zudem drängen die Schwierigkeiten, welche sich bezüglich der Diagnose durch die Widal'sche Reaction ergeben haben, dazu, alle irgendwie verwerthbaren Resultate auch zu benutzen.

Auf Grund dieser Erwägungen schlagen wir vor, den Befund starker Beeinflussung: viele Agglutinationen, aber noch einzelne schwimmende Bacillen (besonders wenn bei 1:50 dasselbe Bild sich zeigt), nicht schlechthin als „negativ" zu bezeichnen, sondern in folgender Weise: Widal-Reaction nicht positiv, aber starke Beeinflussung (oder Widal unvollkommen); Wiederholung wünschenswerth.

Was nun die Frage betrifft: „In welcher Erkrankungszeit pflegt die positive Reaction aufzutreten?" so haben auch unsere Beobachtungen analog den früheren ergeben, dass der Zeitpunkt des ersten Auftretens ganz ausserordentlich variirt. So schön und wünschenswerth es auch gewesen wäre: die Hoffnung, eine bestimmte gesetzmässige Beziehung zwischen Stadium oder Zeit der Erkrankung und Auftreten der Agglutinationsfähigkeit zu finden, ist endgültig aufzugeben. Wir sahen das Ansteigen oder Absinken der Agglutinationsfähigkeit in den allerverschiedensten Stadien; die Akme der Curve, wenn man so sagen will, liegt oft zu Anfang, oft in der Mitte, oft am Ende der Erkrankung. In der Reconvalescenz ist die Agglutinationsfähigkeit oft schon verschwunden, oft beginnt sie erst dann allmählich. Von der ausserordentlichen Variabilität wird man sich leicht in den genauen Protocollen überzeugen.

Was unsere Erfahrungen über die Frühdiagnose durch die Reaction betrifft, so verfügen wir nur über 3 Fälle, bei denen die Reaction schon in ersten 10 Tagen der Erkrankung vollkommen positiv war (Fall III, XII und XXIV), negative Resultate sind in dieser Zeit viel häufiger constatirt.



Was nun die Stimmen betrifft, welche behaupten, dass es Fälle gäbe, bei denen eine positive Reaction überhaupt nie auftrete, so sollte ein solches Urtheil nur mit grösster Vorsicht abgegeben werden, d. h. nur dann, wenn innerhalb der ganzen Krankheit bis weit in die Reconvalescenz hinein oder bis zum Tode alle 6 bis 8 Tage die Reaction wiederholt würde. Ich brauche nur auf den von Gebauer[1] mitgetheilten Fall zu verweisen, bei dem die Reaction am 14. Tag negativ war, am 20. positiv, am 22. aber wieder negativ und dann dauernd negativ blieb! Auch wir konnten ein schnelles Auftreten und Verschwinden der Reaction öfter constatiren, und ich halte deshalb meine Fälle VIII, IX und XXXI durchaus nicht für voll beweiskräftig dafür, dass bei ihnen etwa die Reaction nie positiv gewesen sei.

Ich gehe nun zu den genauen Protocollen der Typhusfälle über, und werde im Anschluss an jeden Fall das ihn Charakterisirende besonders hervorheben. Die Reihenfolge ist, wie oben schon angegeben, aufgestellt.

A. Typhusfälle, deren Diagnose durch den bakteriologischen Nachweis der Typhusbacillen gesichert ist.

Fall I.

Pat. Gr., Arbeiter. Typhusbacillen aus dem Urin gezüchtet. 17. IX. 1899. 9. Tag der Erkrankung.[2] Fieber 38 bis 39°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 25. IX. 17. Tag. Widal 1 : 25 und 1 : 50 sofort (vollkommen) positiv. 5. X. entfiebert. 14. X. 45. Tag Widal 1:25 und 1:50 nicht sofort, aber nach 2 Stunden (vollkommen) positiv. 21. X. 52. Tag. Widal 1:25 und 1:50 sofort und nach 2 Stunden (officiell) negativ, aber starke Beeinflussung: sehr viele Agglutinationen, aber noch einige schwimmende Bacillen. 3. XI. 64. Tag. Geheilt entlassen.

Dieser Fall zeigt eine gute Curve der Reaction, besonders der absteigende Schenkel tritt deutlich hervor durch das Beobachten der feineren Nüancirungen. Ein positives Resultat, selbst eine „Beeinflussung" wurde am 9. Tag noch nicht beobachtet.

Fall II.

Pat. N., Arbeiter. Typhusbacillen aus dem Urin gezüchtet. 6. XI. 1899. 6. Krankheitstag. Fieber um 39°. Widal 1:25 sofort und nach zwei

[1] *Fortschritte der Medicin.* 1900. Nr. 2.

[2] Als erster Krankheitstag wurde derjenige angesehen, an welchem der Patient nach seiner Angabe begann, sich deutlich krank zu fühlen.



Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 15. XI. 15. Tag. Fieber um 38°. Widal 1:25 und 1:50 sofort positiv, aber nicht vollkommene Paralyse, keine Locomotion, aber öfter lebhafte Axendrehungen, die auch nach 2 Stunden nicht beseitigt sind. 22. XI. entfiebert. 6. XII. 36. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). Recidiv 16. bis 20. XII. 17. I. 1900 geheilt entlassen.

Auch dieser Fall zeigt eine einfache Curve. Bemerkenswerth ist das schnelle Schwinden der Reaction.

Fall III.

Pat. Wu., Arbeiter. Typhusbacillen aus dem einer Armvene entnommenen Blute, später auch aus dem Urin gezüchtet. 10. VIII. 1899 7. Krankheitstag. Fieber um 39°. Widal 1:25 und 1:50 sofort vollkommen positiv. 29. VIII. entfiebert. 15. IX. geheilt entlassen. Später, nach weiteren 2 Monaten, 14. XI. nochmals Widal: 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung).

In diesem Fall war also am 7. Tag die Reaction bereits 1:50 positiv.

Fall IV.

Pat. M. Typhusbacillen aus dem Stuhl gezüchtet; zugleich besteht Tuberculose. 21. VI. 1900. 11. Tag. Fieber um 39°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden officiell negativ, aber starke Beeinflussung: viele Agglutinationen, aber noch öfter schwimmende Bacillen (makroskopisch scheinbar nach 2 Stunden positiv!). 23. VI. 13. Tag. Widal 1:25 sofort, 1:50 nach 2 Stunden (vollkommen) positiv. Im Juli erst hohes, dann stark remittirendes Fieber. Gestorben.

Dieser Fall zeigt klar, wie unrichtig die officielle Mittheilung negativ für den ersten Ausfall der Reaction wäre; nach 2 Tagen war die undeutliche Reaction in eine vollkommen positive umgewandelt.

Fall V.

Pat. G. S., Mädchen. Typhusbacillen aus dem Urin gezüchtet. 11. IX. 1899. 8. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 25. IX. entfiebert. 29. IX. und 10. X. im Urin Typhusbacillen. 15. X. 42. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden officiell negativ, aber starke Beeinflussung: reichlich Agglutinationen, aber noch einige schwimmende Bacillen. 21. X. 48. Tag. Widal 1:25 und 1:50 sofort positiv, aber noch viele Axendrehungen, die nach 2 Stunden verschwunden sind. 24. X. 51. Tag geheilt entlassen.

Dieser Fall zeigt einen steigenden Curvenschenkel. Er zeichnet sich ferner durch das sehr späte Auftreten der Reaction aus. Auch hier ist die zweite unvollkommene Reaction der Vorläufer der vollkommenen, und wäre also eine Mittheilung negativ nicht recht genügend.



Fall VI.

Pat. Sch. Typhusbacillen nach Neufeld's Verfahren aus den Roseolen gezüchtet. 13. VI. 1900. Widal 1 : 25 und 1 : 50 sofort (vollkommen) positiv.

Leider Näheres über Erkrankungstag nicht zu ermitteln.

Fall VII.

Pat. V., 10jähr. Knabe. Typhusbacillen aus der Milz der Leiche gezüchtet. Aufgenommen 27. XII. 1899. Fieber 39 bis 40°. Krankheitstag nicht ermittelt. 30. XII. Widal 1:25 sofort positiv, aber Axendrehungen, die aber nach 2 Stunden verschwinden; 1:50 sofort viele Agglutinationen, aber noch öfter schwimmende Bacillen, nach 2 Stunden vollkommen positiv. Gestorben 6. I. 1900. In der Milz Typhusbacillen nachgewiesen. Reaction aus Blut der Leiche: 1:25 und 1:50 sofort nicht ganz, nach 2 Stunden vollkommen positiv.

Dieser Fall zeigt also ein den Tod überdauerndes Bestehenbleiben der Reaction; bei Vergleich mit den Litteraturangaben über den Ausfall der Reaction bei der Typhusleiche ist mithin der Schluss zu ziehen, dass keine gesetzmässige Beziehung zwischen dem Unterliegen des Körpers und der Agglutinationsfähigkeit seines Blutserums besteht.

Fall VIII.

Fall H. Typhusbacillen aus dem Blut gezüchtet. Aufgenommen am 31. VIII. 1899. Seit 3 Wochen kränkelnd, seit 8 Tagen zu Bett. Fieber 39 bis 40°. 1. IX. Widal 1:25 negativ. 8. IX. Fieber um 39°. Widal 1:25 sofort und nach 5 Stunden negativ, nach 20 Stunden makroskopisch positiv, mikroskopisch jedoch neben vielen Agglutinationen noch schwimmende Bacillen. 20. IX. Fieber um 38°. Widal 1 : 25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 22. IX. entfiebert. 14. X. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden ebenso negativ. 14. X. geheilt entlassen.

Dieser Fall gab also nie ein positives Resultat. Die Reaction am 8. IX. möchte ich als eine Andeutung von Beeinflussung auffassen, zumal ich bei vollkommen negativem Widal eine solche Veränderung auch nach 20 Stunden nicht beobachtet habe. Aber auch abgesehen davon, halte ich den Fall nicht für beweisend dafür, dass die Reaction überhaupt nie aufgetreten sei, weil in der Zeit vom 20. IX. bis 14. X., in welcher keine Reaction angestellt wurde, dieselbe sehr wohl doch kurze Zeit positiv gewesen sein kann. Jedenfalls hat die Reaction hier für die Frühdiagnose praktisch im Stich gelassen.

Fall IX.

Fall Kl. Typhusbacillen aus den Roseolen gezüchtet. Aufgenommen 24. XI. 1899. 3. Krankheitstag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden



negativ (ohne jede Beeinflussung). 27. XI. 6. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden ebenso negativ. 6. XII. 15. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden ebenso negativ. 16. XII. 25. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden ebenso negativ. 8. I. 1900. 48. Tag. Geheilt entlassen.

Hier war also 4 Mal bis zum 25. Tage die Reaction vollkommen negativ, hat also für die Frühdiagnose im Stich gelassen. (Beweisend dafür, dass die Reaction überhaupt nicht aufgetreten sei, ist der Fall aber natürlich nicht, da in der Reconvalescens, nach dem 25. Tag, die Reaction überhaupt nicht mehr angestellt wurde.)

Fall X.

Pat. Kr. Typhusbacillen bei der Section aus der Milz gezüchtet. Mehrere Tage vor dem Tode Widal sofort und nach 2 Stunden 1 : 25 negativ (ohne Beeinflussung). Erkrankungstag oder sonstiges Nähere nicht zu ermitteln.

Fall XI.

Pat. R. Typhusbacillen aus dem einer Armvene entnommenen Blute gezüchtet. 11. VII. 1899. 9. Tag. Fieber um 39°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 8. VIII. entfiebert. 9. IX. geheilt entlassen.

Hier war also Frühdiagnose durch Widal am 9. Tag nicht möglich gewesen; später ist die Reaction nicht mehr angestellt worden.

Fall XII.

Pat. Köh. Typhus und Pneumonie, durch Section bestätigt, im Darm zahlreiche Typhusgeschwüre. Typhusbacillen aus der Milz gezüchtet. „Diplococcus catarrhalis" reichlich aus Lunge, Leber, Milz und Nieren gewonnen. 19. I. 1900. 6. Krankheitstag. Widal 1 : 25 und 1 : 50 sofort nicht ganz, wohl aber nach 2 Stunden vollkommen positiv. 23. I. 10. Tag gestorben.

Dieser schwer verlaufene Fall zeigte also schon am 6. Tag positive Reaction 1:50.

B. Klinisch sichere Typhusfälle, jedoch nicht durch den Bacillennachweis gestützt.

Fall XIII.

Pat. Wo. 5. IX. 1899. 14. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 12. IX. 21. Tag (Fieber um 38°). Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 15. bis 18. IX. Temp. 37°. 18. bis 22. IX. Temp. um 38°. 22. XI. 31. Tag. Widal 1:25 und 1:50 sofort vollkommen positiv. 24. IX. 33. Tag entfiebert. 14. X. 53. Tag. Widal 1:25 sofort



vollkommen positiv, 1:50 auch sofort positiv (aber noch viele Axendrehungen, die nach 2 Stunden aber verschwinden). 21. X. 60. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden vollkommen negativ (ohne jede Beeinflussung). 23. X. 62. Tag geheilt entlassen.

Dieser Fall zeigt eine gute Curve der Agglutinationsfähigkeit; eine Frühdiagnose durch die Reaction glückte nicht; die Agglutinationsfähigkeit überdauerte die Entfieberung um mindestens 20 Tage, war aber dann bald vollkommen verschwunden.

Fall XIV.

Pat. Sch. 3. X. 1899. 6. Krankheitstag. Fieber 38 bis 40°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 14. X. 17. Tag (Fieber um 39°). Widal 1:25 und 1:50 nach 2 Stunden vollkommen positiv (sofort waren noch viele lebhafte Axendrehungen vorhanden). 1. XI. 35. Tag entfiebert. 7. XI. 41. Tag. Widal 1:25 sofort negativ, aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch schwimmende Bacillen), nach 2 Stunden positiv, aber nicht vollkommene Paralyse, noch vielfach lebhafte Axendrehungen, 1:50 sofort ebenso wie nach 2 Stunden „negativ“, aber starke Beeinflussung: (viele Agglutinationen aber auch noch schwimmende Bacillen). 15. XI. 49. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 7. XII. 71. Tag geheilt entlassen.

Auch dieser Fall zeigte eine gute Curve; besonders der absteigende Schenkel wird durch das Beobachten der feineren Nüancen deutlich. Die schwächere Reaction am 7. XI. lässt auf ein Schwinden der Agglutinationsfähigkeit schliessen, das auch nach 8 Tagen constatirt wird. Auch hier kam die Reaction für die Diagnose nicht zeitig genug. Die Agglutinationsfähigkeit überdauerte die Entfieberung mindestens 6 Tage, war aber am 14. Tag verschwunden.

Fall XV.

Pat. Ha. 7. XI. 1899. 9. Krankheitstag. Fieber um 40°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 15. XI. 17. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden „negativ“, aber Beeinflussung: mässig viel Agglutinationen, aber noch viele schwimmende Bacillen. 26. XI. 28. Tag (Fieber 38 bis 39°). Widal 1:25 und 1:50 sofort vollkommen positiv. 2. XII. 34. Tag entfiebert. 6. XII. 38. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 14. I. 1900. 17. Tag geheilt entlassen.

Auch hier eine gute Curve der Agglutinationsfähigkeit. Ein schönes Beispiel, wie falsch es wäre, allein aus dem Ausfall der Reaction am 9. und 38. Tage zu schliessen, dieselbe sei überhaupt nicht in der Krankheit positiv gewesen. Bei Beginn der Reconvalescenz war sie schon wieder weg! Gleichwohl kam sie auch hier zu spät. Der zweifelhafte Ausfall



am 15. XI., als Vorläufer des positiven Ausfalles, deutet auch hier auf die Nothwendigkeit, in einer officiellen Mittheilung einen solchen Befund nicht unerwähnt zu lassen.

Fall XVI.

Pat. Schi. 1. V. 1900. 6. Krankheitstag (Fieber 39 bis 40⁰). Widal 1:25 sofort negativ (ohne jede Beeinflussung), nach 2 Stunden „negativ", aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch öfters schwimmende Bacillen). 12. V. 17. Tag. Widal 1:25 sofort vollkommen positiv, 1:50 nach 2 Stunden vollkommen positiv. 3. VI. 39. Tag entfiebert. 12. VI. 48. Tag. Widal 1:25 sofort vollkommen positiv, 1:50 nach 1 Stunde vollkommen positiv. 13. VI. (49. Tag) geheilt entlassen.

Dieser Fall zeigt den steigenden Schenkel der Curve. Früh, am 6. Tag, Andeutung einer positiven Reaction, was wieder darauf hinweist, einen solchen Befund in einer officiellen Mittheilung zu verwerthen.

Fall XVII.

Pat. St. 23. III. 1900. 10. Krankheitstag. Fieber um 39⁰. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden „negativ", aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch schwimmende Bacillen). 24. bis 29. III. kein Fieber, dann dauernd schwankend von 37·5 bis 39·5. 31. III. 18. Tag. Widal 1:25 sofort nicht ganz (noch lebhafte Axendrehungen), nach zwei Stunden vollkommen positiv, 1:50 nach 2 Stunden „negativ", aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch schwimmende Bacillen). 6. IV. 24. Tag. Widal 1:25 sofort vollkommen positiv, 1:50 sofort nicht ganz (noch lebhafte Axendrehungen), nach 2 Stunden vollkommen positiv. 10. IV. 28. Tag entfiebert. Widal 1:80 sofort positiv (aber noch öfter lebhafte Axendrehungen, die auch nach 2 Stunden nicht verschwinden). 13. IV. 31. Tag. Widal 1:80 derselbe Befund positiv, 1:50 nach 1 Stunde vollkommen positiv. 24. IV. 42. Tag geheilt entlassen.

Auch hier steigender Curvenschenkel; ebenso auch wieder ein starker Hinweis, die undeutliche Reaction des 10. Tages wohl zu beachten (weil Vorläufer der ganz positiven).

Fall XVIII.

Pat. Pa. 28. VII. 1899. 5. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40⁰. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 8. VIII. 16. Tag. Widal 1:25 und 1:50 sofort noch nicht positiv (bei vielen Agglutinationen noch schwimmende Bacillen), nach 6 Stunden beide vollkommen positiv (nach 2 Stunden nicht controlirt). 9. bis 18. VIII. kein Fieber. 18. bis 20. VIII. Recidiv. 12. IX. geheilt entlassen.

Steigenden Curvenschenkel, die Reaction trat etwas zu spät auf.

Fall XIX.

Pat. Mi. 28. VI. 1899. 6. Krankheitstag (Fieber um 39⁰). Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 7. VII.



15. Tag. Widal 1:25 nach 2 Stunden vollkommen positiv. 7. VII. bis 20. VII. kein Fieber. 20. bis 30. VII. Recidiv, ebenso 13. VIII. 6. IX. (76. Tag) geheilt entlassen.

Steigender Curvenschenkel; die Reaction trat etwas zu spät auf. Es fehlt Controle 1:50.

Fall XX.

Pat. Auguste S., ca. 18 Jahre. 11. IX. 1899. 3. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40°. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 15. X. 37. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden „negativ", aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch schwimmende Bacillen). 21. X. 43. Tag. Widal 1:25 sofort nicht vollkommen (noch viele Axendrehungen), nach 2 Stunden vollkommen positiv, 1:50 sofort negativ (ohne jede Beeinflussung), nach 2 Stunden (officiell) negativ, aber starke Beeinflussung (viele Agglutinationen, aber noch schwimmende Bacillen). Fieber viele Remissionen. 23. X. (45. Tag) gebessert entlassen.

Stark verspätetes Auftreten der Reaction; steigender Curvenschenkel; die zweite Reaction ist wieder der Vorläufer der positiven.

Fall XXI.

Pat. L. 29. XI. 1899. 19. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40°. Widal 1:25 und 1:50 sofort vollkommen positiv. 6. XII. 26. Tag. Widal 1:25 positiv.

Hier konnte die Reaction leider nicht in frühem Stadium geprüft werden.

Fall XXII.

Pat. K. 9. IX. 1899. 14. Krankheitstag. Fieber 38 bis 39·5°. Widal 1:25 und 1:50 sofort vollkommen positiv. '14. IX. 19. Tag entfiebert. 30. IX. 35. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 7. X. 42. Tag. Widal ebenso 1:25 negativ (ohne jede Beeinflussung). 7. X. geheilt entlassen.

Dieser Fall zeigt einen absteigenden Curvenschenkel. Leider ist die Reaction vor dem 14. Tage nicht gemacht worden. In der Reconvalescenz war sie schon verschwunden.

Fall XXIII.

Pat. Kr. Typhus-Recidiv. Vor 8 Tagen von 5 wöchentl. Typhus (Wid. pos.) geheilt entlassen. 7. VII. 1899. Widal 1:25 nach 2 Stunden positiv. Bald geheilt entlassen.

Fall XXIV.

Pat. Z. 10. VII. 1899. 8. Krankheitstag. Fieber 39 bis 40°. Widal 1:25 nach 2 Stunden vollkommen positiv.

Hier trat die Reaction also früh ein; es fehlt leider Controle 1:50.



Fall XXV.

Pat. Frau Br. 5. VII. 1899. Fieber 39 bis 40°. 14. Krankheitstag. Widal 1:25 und 1:50 positiv. Fieber bis 26. VIII. 2. IX. geheilt entlassen.

Leider vor dem 14. Tag die Reaction nicht angestellt, ebenso bei den beiden folgenden Fällen:

Fall XXVI.

Pat. Sta. 10. VII. 1899. 15. Krankheitstag. Fieber um 39·5°. Widal 1:25 nach 2 Stunden positiv. 9. VIII. entfiebert. 1. IX. geheilt entlassen.

Fall XXVII.

Pat. Frau S. Aufgenommen 16. VIII. 1899. 8. Krankheitstag Fieber 38 bis 39°. 24. VIII. 16. Krankheitstag. Widal 1:25 positiv. 7. IX. entfiebert. 12. X. geheilt entlassen.

Es folgen nun 3 Fälle von positiver Reaction bei Typhuskranken, bei denen der Tag der Erkrankung nicht zu ermitteln war und die wir deshalb nur kurz als positiv erwähnen.

Fall XXVIII.

Pat. Mädchen Ha. 30. VI. 1899. Widal 1:25 sofort positiv, 1:50 nach 6 Stunden positiv. Geheilt entlassen.

Fall XXIX.

Pat. Min. 17. VII. 1899. Widal 1:25 und 1:50 positiv. Geheilt entlassen.

Fall XXX.

Pat. Rei. 16. VIII. 1899. Widal 1:25 und 1:45 positiv. Geheilt entlassen.

Der nun folgende Typhusfall schliesst sich wegen der stets ohne Erfolg angestellten Reaction an die Fälle VIII und IX an.

Fall XXXI.

Pat. Knabe Otto S. 1. IX. 1899. 4. Krankheitstag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). [Nach 18 Stunden makroskopisch positiv, mikroskopisch aber neben vielen Agglutinationen noch einzelne schwimmende Bacillen]. — Constantes Fieber zwischen 38·5 und 40°. 13. IX. bis 26. IX. starke Fieberremissionen, Schwankungen von 36 bis 40°. 30. IX. kein Fieber. 33. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). Bis 11. X. kein Fieber. 11. X. bis 26. X. Fieber um 38°. Entwickelung eines pleurit. Exsudates. 17. X. 50. Tag. Widal 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung). 21. X. 54. Tag. Widal 1:25 ebenso negativ. 24. X. 57. Tag. Ablassung des pleurit. Exsudates. Widal mit dem Exsudat gemacht: 1:25 sofort und nach 2 Stunden „negativ", aber starke Beeinflussung. (Viele Agglutinationen, aber noch oft schwimmende Bacillen.) 6. XII. geheilt entlassen.



Dass die Reaction hier in der Erkrankung gar nicht aufgetreten sei, ist durchaus nicht bewiesen, da in der wichtigsten Zeit zwischen dem 4. und 33. Krankheitstag die Reaction nicht wiederholt wurde. Fest steht nur, dass am 4. Tag und im 2. Monat die Reaction nicht da war. Ob die Beeinflussung beim ersten Male (nach 18 Stunden) als positive Andeutung aufzufassen ist, welche Deutung ferner das Verhalten des pleuritischen Exsudates finden könnte, darauf will ich nicht eingehen.

Zum Schluss noch ein Fall, welchen ich nur erwähne, weil er ein Gegenstück zu dem bekannten Fall aus der Litteratur bildet, der 7 Jahre nach der Erkrankung noch positives Resultat gab:

Fall XXXII.

Pat. Nö. Vor 7 Jahren einen Typhus durchgemacht. Widal 1 : 25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung).

Diesen 32 Typhusfällen stehen 21 Controlfälle nicht typhöser Erkrankung gegenüber, bei welchen die angestellte Widal'sche Reaction 1:25 sofort und nach 2 Stunden negativ (ohne jede Beeinflussung) war. Die Diagnosen dieser Fälle waren: 3 Mal Pneumonie, 4 Mal Gastritis, 3 Mal Influenza, ferner je 1 Mal acute Bronchitis, chronische Bronchitis, Lungentuberculose, Chlorose, Erysipel, Meningitis cerebrospinalis, acute Peritonitis, Parametritis, Pyelitis, Palpitatis cordis, Urämia.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, Hrn. Sanitätsrath Dr. Freymut für die Ueberlassung der Krankengeschichten, den Herren Assistenzärzten Dr. Zuckschwert und Dr. Kolbe für ihre bereitwillige Unterstützung, ganz besonders aber meinem hochverehrten Chef, Hrn. Dr. Petruschky, für die stete Anregung und Hülfe meinen herzlichen Dank zu sagen.



Was wussten unsere Vorfahren von der Empfänglichkeit der Ratten und Mäuse für die Beulenpest des Menschen?

Eine Studie zur Seuchengeschichte.

Von

Dr. **Rudolf Abel,**
Physikus und Stadtarzt in Hamburg.

I.

Dass Ratten, Mäuse und andere Nagethiere von der Beulenpest des Menschen in Mitleidenschaft gezogen werden und unter Umständen zu ihrer Verbreitung in nicht geringem Maasse beitragen können, diese Erkenntniss hat sich der wissenschaftlichen Welt erst ganz neuerdings, beim Studium der letzten, jetzt noch herrschenden Pestpandemie erschlossen. Als die Seuche im Jahre 1894 aus dem Inneren Chinas an die ostasiatische Küste vordrang, damit in den Bereich unserer Interessen rückte und der Beobachtung durch europäisch geschulte Forscher zugänglich wurde, fiel diesen sofort auf, dass an Orten, die von der Pest befallen wurden, vor oder neben dem Ausbruch der Krankheit unter den Menschen eine grosse Sterblichkeit und ein auffallender Wandertrieb unter den Ratten nicht selten zu bemerken war. Beim Weiterschreiten der Epidemie wiederholte sich diese Beobachtung vielfach, wenn auch nicht allerorts, wo die Seuche auftrat. Unruhe und Sterben unter den Mäusen wurde ebenfalls gelegentlich, aber im Ganzen seltener und in geringerem Umfange als bei den Ratten wahrgenommen. Nach der Entdeckung des Erregers der Beulenpest durch Kitasato und Yersin war es für die bakteriologische Forschung ein Leichtes, nachzuweisen, dass die Erkrankungen der Ratten und Mäuse durch denselben Mikroorganismus hervorgerufen werden, der die Pest des



Menschen erzeugt, dass es mithin zweifellose Pestinfectionen sind, an denen wir die Nager zur Zeit des Herrschens der Seuche unter den Menschen zu Grunde gehen sehen.

Müssen wir nach diesen Feststellungen damit rechnen, dass die kleinen Nager für die Pestinfection ganz ausserordentlich empfänglich sind und als Träger des Pestcontagiums bei der Verbreitung der Pest unter geeigneten Bedingungen eine erhebliche Rolle spielen können, so erhebt sich nun mit Nothwendigkeit sofort die Frage, wie kommt es, dass wir von dieser für die Pestepidemiologie so bedeutungsvollen Thatsache bis in die neueste Zeit hinein keine Ahnung gehabt haben?

Eine Besonderheit der jetzigen Pestpandemie ist die Betheiligung der Ratten, wie sich bei näherer Nachforschung herausgestellt hat, keineswegs. Aus der älteren indischen Pestlitteratur hat man entnehmen können, dass in den Heimathländern der Pest an den Abhängen des Himalaya schon vor Jahrhunderten zu Zeiten von Epidemieen unter den Menschen nicht nur auffallendes Sterben der Ratten bemerkt, sondern sogar schon ganz richtig beobachtet worden ist, dass die Berührung einer kranken oder todten Ratte die Entwickelung einer Pesterkrankung beim Menschen hervorzurufen vermöge.[1] Neuerdings hat man auch erfahren, dass in manchen Gegenden, wo Pestherde endemisch bestehen, den Eingeborenen Unruhe und Sterben der Ratten und ähnlicher Nagethiere ganz allgemein als ein Zeichen nahender Pest gilt, das sie zu schleuniger Flucht aus ihren Wohnsitzen veranlasst. Derartige Thatsachen, die aus räumlich ganz getrennten und zum Theil jeder Verbindung unter einander ermangelnden Landstrichen berichtet werden, so aus bestimmten Theilen Chinas und Sibiriens,[2] einigen nordindischen Provinzen und pestverseuchten

---

[1] Vgl. Simpson, *Brit. med. Journal.* 1898. 24. Sept. p. 853. — Hankin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. p. 707. — Nathan, *The plague in India 1896 to 1897.* Simla 1898. Bd. I. p. 72. — Bericht der deutschen Pestcommission. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* Bd. XVI.

[2] Durch Favre (*diese Zeitschrift*, Bd. XXX, S. 359) u. A. ist bekannt geworden, dass in Transbaikalien eine Murmelthierart (Arktomys bobak) an einer Bubonenkrankheit leidet, die wahrscheinlich Pest ist und deren Uebertragbarkeit auf den Menschen den Eingeborenen bekannt ist. Ich möchte darauf aufmerksam machen, dass Radde (Brehm, *Thierleben,* Abth. I, Bd. II, S. 300, Leipzig 1883) auf Grund persönlicher Erfahrungen an Ort und Stelle Folgendes erzählt: „Unter der Achsel des Murmelthieres findet man zwischen dem Fleische eine dünne weissliche Masse, deren Genuss verboten wurde, da sie der Ueberrest des Menschen ist, welcher durch den Zorn des bösen Geistes zum Bobak verdammt wurde." Ist die „dünne weissliche Masse" eine Lymphdrüse? Ist der Aberglaube vielleicht eine Andeutung davon, dass man eine Ahnung von der Gefährlichkeit des Genusses von Bubonen kranker Murmelthiere hatte?



Bezirken Innerafrikas, beweisen ebenfalls, dass die Pest nicht zum ersten Male auf ihrem jetzigen Zuge neben den Menschen auch die Ratten und Mäuse ergreift. Was liegt da näher als die Vermuthung, dass auch in Europa früher, wenn auch vielleicht nicht immer und überall, so doch häufig genug neben den Menschen die Nager der Pest zum Opfer gefallen sein werden?

Um so auffallender ist es, dass wir bis in die jüngste Zeit von der Betheiligung der Nager an der Pest nichts gewusst haben. Die Autoren, aus deren Werken wir mangels eigener Erfahrungen bis zum Beginne der jetzigen Pandemie unsere Kenntnisse von der Pest zu schöpfen pflegten, heben nirgends eine Bedeutung der Ratten und Mäuse für die Pestverbreitung hervor. Weder bei Griesinger und Liebermeister, deren treffliche Monographieen der Seuche in klinischer Beziehung die Quellen unseres Wissens waren, noch bei den berühmten Historiographen der Pest, als Sprengel, Hecker, Haeser, Hirsch, finden wir einen klaren Hinweis der Art, abgesehen von einer gelegentlichen Erwähnung der Ratten in der indischen Pest von 1836, der sogenannten Palipest durch Haeser.[1] Sind denn nun diese Autoren, deren Darstellungen doch auf gründlichstem Studium der alten europäischen Pestlitteratur beruhen, bei keinem ihrer Gewährsmänner auf Angaben gestossen, die ihre Aufmerksamkeit auf das Verhalten der Nager lenken mussten? Hat thatsächlich keiner der zahllosen europäischen Pestschriftsteller des 5. bis 18. Jahrhunderts, die als Zeitgenossen der damals so verheerenden Pestepidemieen die Seuche genau und aus nächster Nähe kennen lernen mussten, Beobachtungen über die Nager gemacht und aufgezeichnet, Beobachtungen, die in der jetzigen Pandemie so vielfach sich wiederholen, die in Indien schon vor Jahrhunderten sich aufgedrängt haben und die selbst von den Wilden Afrikas angestellt und in ihrer Tragweite richtig erkannt worden sind?

In den letzten Jahren ist diese Frage schon von mehreren Forschern des Studiums für werth erachtet, auffallender Weise aber in ganz verschiedenem Sinne beantwortet worden. Denn während Netter[2], ein in der alten Pestlitteratur wohlbelesener Autor, sich dahin ausspricht, dass — „chose curieuse" — in den alten Documenten nichts den neueren Erfahrungen über die Ratten Entsprechendes zu lesen sei; während der gelehrte Proust[3] sich äussert: la mort des rats n'a pas été signalée dans les épidémies du moyen age", behaupten Nuttall[4] und noch schärfer

[1] Haeser, *Lehrbuch der Geschichte der Medicin.* 3. Bearbeitung. Jena 1882. Bd. III. S. 731.

[2] Netter, *Revue d'Hygiène.* 1897. S. 245—246.

[3] Proust, *La défense de l'Europe contre la peste.* Paris 1897. p. 6.

[4] Nuttall, *Centralblatt für Bakteriologie.* Abth. I. Bd. XXII. S. 93.



Sticker[1], dass in den alten Pestschriften zahlreiche und deutliche Mittheilungen über die Betheiligung der Ratten, Mäuse und Maulwürfe bei Pestepidemieen des Menschen enthalten seien. Sucht man nach einer Erklärung für diese Verschiedenheit in den Meinungen, so wird man zunächst auf den Gedanken kommen, dass wohl Proust und Netter zufällig solche alten Pestabhandlungen in Händen gehabt haben, in denen der Nager keine Erwähnung gethan wird, wogegen Sticker und Nuttall zufällig solche mit positiven Angaben gefunden haben werden. Aber die Dinge liegen doch wohl anders. Wer vorurtheilsfrei und unbeeinflusst durch unsere aus der letzten Epidemie herstammenden Erfahrungen die Angaben prüft, die Sticker und Nuttall bringen, wird zu dem Ergebnisse gelangen, dass thatsächlich doch nur ein oder zwei der an und für sich schon wenig zahlreichen, von ihnen gegebenen Citate beweisend sind für die gelegentliche Beobachtung einer erhöhten Mortalität unter den Ratten und Mäusen während früherer europäischer Pestepidemieen; die übrigen von ihnen als Belege dafür beigebrachten Angaben besitzen, wie fernerhin noch im Einzelnen nachgewiesen werden wird, den ihnen beigelegten Sinn selbst bei weitherzigster Deutung nicht, wenn man ihn nicht künstlich auf Grund unserer heutigen Kenntnisse hineinzwängen will.

Bei dieser Sachlage muss es als bis jetzt noch nicht genügend geklärt gelten, ob und inwieweit unsere Vorfahren von der Rolle der Ratten und Mäuse in der Pest etwas gewusst haben, und damit auch, in welchem Umfange die Thiere in früheren Zeiten an der Verbreitung der Pest in Europa betheiligt gewesen sind. Gründliche Aufklärung über diese Verhältnisse sich zu verschaffen, hat aber nicht nur ein historisches Interesse, sondern, wie am Schlusse dieses Aufsatzes näher dargelegt werden wird, auch eine gewisse praktische Bedeutung.

Ich habe es daher für angezeigt gehalten, einmal ausführlich zu erörtern, was uns aus früheren Zeiten über das Verhalten der Ratten, Mäuse und anderen Nager in Zeiten der Pest überliefert worden ist. Das Material, an der Hand dessen ich die Behandlung des Gegenstandes unternehme, habe ich während der letzten Jahre bei der Lectüre von einigen hundert Pestabhandlungen aller Zeiten gesammelt. Nothwendiger Weise ist dies Material unvollständig: denn es übersteigt eines Menschen Kraft, alles was jemals über die Pest geschrieben worden ist, in den verstecktesten Winkeln von hundert Bibliotheken aufzustöbern und an's Licht zu ziehen. Wer sich aber mit der älteren Pestlitteratur einmal befasst hat, der weiss, dass selbstständige Auffassungen und Beobachtungen nur bei verhältnissmässig recht wenigen Autoren sich finden und dass man nach

[1] Sticker, *Wiener klin. Rundschau.* 1898. S. 167.



der Durchsicht einer gewissen Anzahl von Abhandlungen aus einer bestimmten Periode den Inhalt anderer Arbeiten aus derselben Zeit ziemlich genau im Voraus angeben kann. Wenn ich mich daher auch der Erkenntniss durchaus nicht verschliesse, dass meine Darstellungen durch Forscher, die sich nach mir mit der Frage beschäftigen werden, wesentliche Erweiterungen werden erfahren können, so glaube ich andererseits doch mit Gewissheit voraussagen zu dürfen, dass die von mir aus meinem Material gezogenen Schlüsse in allen entscheidenden Punkten dadurch unbeeinflusst bleiben werden.

II.

Das älteste Document, das von einem Zusammenhang zwischen Nagern und Pest berichtet, hat man — wer zuerst, entzieht sich meiner Kenntniss — in der Bibel finden wollen. Im ersten Buche Samuelis, Cap. 5 und 6, wird erzählt, dass die Philister, als sie den Juden die Bundeslade geraubt hatten, vom Herrn mit einer schweren Beulenseuche gestraft wurden. Um von ihr befreit zu werden, sollten sie als Schuldopfer fünf goldene Beulen und fünf goldene Mäuse bringen. Cap. 6 Vers 5 lautet: „So müsset ihr nun machen Bilder eurer Beulen und eurer Mäuse, die euer Land verderbet haben, dass ihr dem Gott Israels die Ehre gebt; vielleicht wird seine Hand leichter werden über euch und euren Gott (dessen Idol umgestürzt gefunden worden war) und über euer Land". Hier ist allerdings von einer Beulenseuche und von Mäusen nebeneinander die Rede. Aber es fehlt jede Andeutung dafür, dass beide etwas miteinander zu thun gehabt haben. Die Mäuse werden zum ersten Male erwähnt, als von dem Schuldopfer die Rede ist, vorher bei der Beschreibung der Seuche nicht. Es heisst von ihnen, dass sie „das Land verderbet", also die Ernte vernichtet haben. Bei unbefangener Auffassung würde man folgern müssen: Um ihre Felder von den Mäusen zu befreien, opferten die Philister die goldenen Mäuse; um selbst der Beulen ledig zu werden, die goldenen Beulen. Natürlich steht es jedem frei, einen weitergehenden Sinn in die Stelle hinein zu legen. Aber man darf nicht vergessen, dass man damit Vermuthungen sich hingiebt, die jeder thatsächlichen Unterlage entbehren. Mit Sticker gar behaupten, dass „die Philister den Zusammenhang der Beulenpest mit der Mäuseplage erkannt" haben, heisst doch eine rein hypothetische Auffassung etwas gar zu sicher als erwiesenes Geschehniss hinstellen wollen.

Die alten medicinischen Ausleger der Erzählung, wie Reinhard in seinen „Bibelkrankheiten" (Frankfurt u. Leipzig 1767, S. 113ff.), und die

von ihm und Wegner[1] angezogenen Autoren bringen Krankheit und Mäuse nicht miteinander in Beziehung. Sie deuten die Seuche übrigens nur zum Theil als Pest, meist als Syphilis oder auch auf Grund der Luther'schen Uebersetzung, die statt Beulen den Plural eines deutschen Kraftwortes für Podex setzte, als rothe Ruhr. Unter Anspielung auf die biblische Erzählung nannte man dann später „Philister" nicht nur die Leute mit rother Ruhr, sondern auch die Haemorrhoidarier und endlich eben jeden Stubenhocker, wie noch heute.

Durch Kombination einer anderen Stelle der Bibel mit einer Erzählung von Herodot hat man einen weiteren Beweis für die Betheiligung der Mäuse an der Verbreitung der Pest im Alterthum erbringen wollen.[2] Jesaias erzählt Cap. 37 V. 36: als Sanherib gegen Hiskias zu Felde zog, „fuhr aus der Engel des Herrn und schlug im assyrischen Lager 185000 Mann". Der Engel des Herrn soll die Pest bedeuten können. Herodot[3] berichtet, dass Nachts Feldmäuse in das assyrische Lager kamen, als Sanherib gegen Aegypten Krieg führte, die Handhaben der Schilde zerfrassen und damit das Heer wehrlos machten. Von einer Pest weiss Herodot nichts. — Hier also Feldmäuse, dort Pest. Daraus will man folgern, dass ganz wie heutzutage auch damals schon Pest und Mäuse mit einander zu schaffen gehabt haben. Gewiss mag es so gewesen sein. Aber es bedarf nicht vieler Worte, um darzulegen, dass sich etwas Derartiges nicht aus den Darstellungen der Erzähler entnehmen, sondern nur Kraft unseres heutigen Wissens in sie hineingeheimnissen lässt.

Dass im alten Aegypten angeblich die Maus oder die Ratte als Sinnbild der Vernichtung gegolten hat — im Ptahtempel zu Theben soll der Gott der Vernichtung mit der Ratte in der Hand dargestellt gewesen sein —, beweist natürlich in keiner Hinsicht, dass man von der Betheiligung der Thiere an der Verbreitung der Pest dort etwas gewusst hat, sondern erklärt sich zur Genüge aus der Rolle, die den Thieren als Vernichtern der Saaten und Ernten zukommt.

Bei den Schriftstellern des klassischen Altertums sucht man vergebens nach Andeutungen von irgend welcher Betheiligung der Mäuse bei Epidemieen unter den Menschen.[4] Das Auftreten tödtlicher Seuchen

[1] Wegner, Gottfried, *De rattis, damnoso . . . populo.* Gedani 1699. S. 38 bis 41. — Der pesterfahrene Mead hat in seinen *Medica sacra,* London 1749, die Philisterplage leider nicht erwähnt.

[2] Vgl. hierzu Lersch, *Geschichte der Volksseuchen.* Berlin 1896. S. 4, Anm.

[3] Herodot, *Geschichte.* Buch II. Cap. 141.

[4] Ratten gab es damals in Südeuropa noch nicht; ob in Nord- und Osteuropa, ist mindestens zweifelhaft, denn das oft als Ratte bezeichnete Thier, dessen Reste in den Pfahlbauten gefunden werden, ist wohl eher eine Wühlmaus als eine Ratte gewesen.



unter anderen Thieren vor oder mit einer Epidemie der Menschen wird dagegen häufig erwähnt, weniger bei den Aerzten[1], die auf Beschreibungen der von ihnen beobachteten Epidemieen ja überhaupt fast ganz verzichtet haben, als bei den Philosophen, Geschichtsschreibern und Dichtern. Schon Homer erzählt im ersten Buch der Ilias (Vers 50), dass Apoll, ehe er die Menschen mit Krankheit schlug, Maulthiere und Hunde sterben liess. Aristoteles, Thukydides und Livius, Ovid, Virgil und Lukrez[2] lassen in den von ihnen beschriebenen Epidemieen vor oder mit den Menschen Thiere, als Rinder, Schafe, Schweine, Pferde, Hunde, Vögel, Wild u. A. zu Grunde gehen; Mäuse werden von keinem erwähnt. Nun kann man noch jetzt das Vorkommen von Epidemieen der Beulenpest in Europa bis in das dritte Jahrhundert vor Christo hinein mit Sicherheit nachweisen; wahrscheinlich hat die Krankheit auch vorher schon gelegentlich gewüthet, wie Andeutungen bei Hippokrates vermuthen lassen.[3] Andererseits zeigen uns die citirten Autoren, dass im Alterthum auf das Verhalten der Thiere in Seuchenzeiten wohl geachtet worden ist. Findet man da nun nie und nirgends von einer besonderen Mortalität, oder sonstigen auffälligen Erscheinungen unter den Mäusen etwas mitgetheilt, so darf man mit einiger Berechtigung wohl annehmen, dass etwas derartiges in den Pestepidemieen des Alterthums auch nicht zur Beobachtung gelangt ist. —

„Saepe exiguus mus
Augurium tibi triste dabit, tellure sub ima
Quem non ullus amor tenuit, sed in aera apertum
Erupit scrobibus, vitaeque atque immemor usus
Et parvos natos et dulcia tecta reliquit.“

Diese Verse, die in des Fracastorius[4] 1550 geschriebenem Buche von der Pest dort, wo er von den Vorzeichen der Seuchen spricht, mitten in die Prosadarstellung von dem Verhalten der Mäuse (vgl. S. 104) eingeflochten sind, entstammen wohl kaum einem alten Dichter, sondern sind vermuthlich ein poetisches Product des Fracastorius selbst. Denn dieser,

---

[1] Ich kenne nur eine Stelle aus Rufus, die Oribasius und Paulus von Aegina erhalten haben: Si quis futuram pestem prospiciat, animum attendens (unter vielem anderen) ad caeterorum animalium interitum etc. (Medici antiqui, graeci, latini atque arabes, qui de febribus scripserunt. Venedig 1594. Blatt 11 u. 41).

[2] Aristoteles. *Histor. animal.* Buch VIII. Cap. 19. — Thukydides, *Geschichte.* Buch II. — Livius, *Geschichte,* an vielen Orten. — Ovid, *Metamorph.* Buch VII. v. 528ff. — Virgil, *Georgica* Buch III. v. 474ff. — Lukrez, *De rerum natura.* Buch VI. v. 1090ff.

[3] Vgl. Hirsch, *Histor. geograph. Pathologie.* Stuttgart 1881. 2. Aufl. Bd. I. S. 349.

[4] Fracastorius, *de contagione.* Lugduni 1550. S. 285.



der bekanntlich nicht nur ein grosser Arzt, sondern auch ein seiner Zeit berühmter Dichter war und sogar die Syphilis metrisch besungen hat, liebt es, auch in seinen wissenschaftlichen Prosaabhandlungen bisweilen ganz unvermittelt den Pegasus zu erklettern und einen kleinen Galopp auf ihm zu unternehmen.

Die Stelle des Plinius[1]: Mures imminentibus ruinis praemigrant, wird man kaum als eine Kenntniss von unruhigem Verhalten der Mäuse vor einer Pest deuten wollen, vielmehr in eine Reihe mit den alten Erzählungen stellen, dass die Nager Erdbeben, Feuersbrünste und das Sinken von Schiffen vorauszuahnen vermögen. Buch X Cap. 85, wo Plinius von dem ihm unerklärlichen, urplötzlichen Auftreten und ebenso plötzlichen Verschwinden von Mäuseplagen spricht, zeigt er übrigens deutlich, dass ihm nichts von einem Hervorkommen oder Zugrundegehen der Mäuse zu Zeiten von Epidemieen bekannt gewesen ist.

Strabo[2] erzählt von der Menge der Mäuse in Spanien, „woraus zuweilen sogar pestartige Krankheiten erfolgen". Ob hier die Mäuse unmittelbar an den Pestilenzkrankheiten, deren Natur dahinsteht, Schuld sein sollen oder erst auf dem Umwege Mäuseplage — Erntevernichtung — Hungersnoth — schlechte Ernährung der Menschen — erhöhte Disposition für Krankheiten —, muss ich unentschieden lassen.

Das ist alles, was ich aus dem Alterthum für die uns beschäftigende Frage beizubringen vermag. Die quantitativ und qualitativ mangelhafte Beschaffenheit des litterarischen Materials, das uns jene Zeiten hinterlassen haben, bringt es mit sich, dass wir uns nur in Vermuthungen ergehen, keine genau zu beziffernden Faktoren in unsere Rechnung einstellen können.

III.

Besseren Boden unter den Füssen gewinnen wir mit Beginn des Mittelalters. In das sechste Jahrhundert fällt die erste grosse Bubonenpestepidemie auf europäischem Boden, über die uns genauere Nachrichten erhalten sind, die sogenannte Pest des Justinian. Da mit den Zeiten der Völkerwanderung sich auch die Ratte[3], die für die Pestinfection empfäng-

[1] Plinius, *Historia naturalis*. Buch VIII. Cap. 42.

[2] Strabo, *Geographica*. Theil I. Buch III. Abschnitt 4. § 17. S. 284. (Editio Groskurd, Berlin und Stettin 1831.) Unklar ist die Stelle Theil I, Buch III, Abschn. 2, § 6, S. 238, wo Strabo spricht von „pestartigem Zustand gewisser Thiere (oder der Luft? — Lesarten divergiren), wie der Schlangen und Feldmäuse".

[3] Vgl. Hehn, *Culturpflanzen und Hausthiere*. Berlin 1874. 2. Aufl, S. 403. (Mus rattus.)



lichste Nagethierspecies, in Europa weit verbreitet hatte, könnte man nun um so eher Mittheilungen über eine Betheiligung der Nager zu finden erwarten. Aber die Litteratur erwähnt, soweit ich sie überblicke, die Ratten und Mäuse in Verbindung mit der Pest nicht. Agathias, Prokop, Evagrius, Gregor von Tours erzählen nichts von ihnen. Paulus Diaconus[1], der um 800 lebte, schreibt von der Pest des Jahres 555, die er unverkennbar als Bubonenpest schildert, dass Häuser ausgestorben seien „solis catulis (Katzen) domum servantibus“ und erwähnt ausdrücklich, dass die Hausthiere am Leben geblieben seien (peculia sola remanebant in pascuis).

Auch aus den nächsten Jahrhunderten bis zum vierzehnten, dem Saeculum des schwarzen Todes, berichten die mir bekannt gewordenen Geschichtsschreiber nichts von Ratten und Mäusen in Pestzeiten, obwohl Epidemieen der Beulenpest anscheinend sehr häufig waren und von gleichzeitiger Mortalität unter Rindern, Pferden, Schafen, Schweinen nicht selten die Rede ist.

Dagegen habe ich bei einem berühmten, um das Jahr 1000 lebenden Arzte bei Avicenna[2], eine sehr wichtige Angabe gefunden, die ich ausführlich wiedergeben will, da sie es wohl verdient, der Vergessenheit entrissen zu werden. Avicenna sagt, als er von den Vorzeichen der Pest spricht, Folgendes: „Et de eis quae significant illud (das Nahen der Pest), est ut videas mures et animalia quae habitant sub terra fugere ad superficiem terrae et pati sedar (arabisches Wort), id est, commoveri hinc inde sicut animalia ebria.“ Diese Beschreibung des Benehmens der Mäuse (und wohl auch der Ratten, denn mus besagt Beides) vor der Pest ähnelt ganz ausserordentlich den von den Beobachtern der jetzigen Pestepidemie gegebenen Darstellungen: Die Thiere kommen aus ihren Löchern hervor, wenn sie der Pestinfection anheimgefallen sind und bewegen sich wie trunken umher. Von einem Sterben der Nager, das jetzt überall bemerkt wird, wo die Thiere überhaupt von der Pest ergriffen werden, erzählt Avicenna zwar nichts, auch nicht Liber canonis IV Fen 6 tract. 3, wo er de effugatione muris et eius interfectione handelt. Aber es kann nach der Art seiner Darstellung doch wohl keinem Zweifel unterliegen, dass er von einer Betheiligung der Ratten und Mäuse zu Zeiten von Pest unter den Menschen, sei es nun durch eigene Beobachtung, sei es durch Mittheilungen Anderer Kenntniss gehabt hat. Die Bedeutung der Nager für die Verbreitung der Pest hat Avicenna freilich nicht erkannt, sonst

[1] Paulus Diaconus, de gestis Langobardorum in Muratori, *Rerum italicarum scriptores*. Mailand 1723. Bd. I. S. 426.

[2] Avicenna, *Liber Canonis*. Basel 1556. Liber IV. Fen. I, tract. 4. S. 807.



würde ihm nicht als ganz gleichwerthig mit dem Verhalten der Mäuse als Vorzeichen einer Pest gelten ranas jam multiplicari[1] und animalia sensibilis naturae sicut allechalach et eius similia fugere ex nidis suis et ire ab eis et fortasse dimittunt ova sua.

Nicht unerwähnt mag bleiben, dass die Schilderung Avicenna's von dem Verhalten der Mäuse sich, da ihr Autor in Persien lebte, vielleicht nicht auf europäische, sondern auf asiatische Epidemieen der Seuche beziehen dürfte.

Bei den arabischen Aerzten vor Avicenna, bei Rhazes, Isaac Judaeus und Serapion habe ich keinerlei Angaben über die Mäuse in Beziehung zu der Pest zu entdecken vermocht. Bei Ali Abbas[2] fand ich nur die kurze Bemerkung, dass in pestilenzialischer Luft neben den Menschen auch Thiere erkranken. Avicenna scheint daher als erster den Satz von den Mäusen gebracht zu haben. Von den nach ihm lebenden arabischen Schriftstellern berichten Avenzoar, Averroes und Ibnulkhatîb[3], soweit ich ihre Werke kenne, nichts von Erscheinungen unter den Thieren zu Pestzeiten. Der als der jüngere Mesue[4] bezeichnete Schriftsteller, dessen Nationalität, Persönlichkeit und Schaffenszeit durchaus zweifelhaft sind, der aber allem Anscheine nach erst nach Avicenna geschrieben hat, stellt ganz ähnlich wie Avicenna und wohl im Anschluss an ihn als Vorzeichen der Pest auf: „Videbis animalia generata ex coruptione multiplicari in terra ut vermes, ranas et muscas; et si sit a causa subterranea videbis reptilia habitantia in cavernis exire ad superficiem terrae et dimittere ova sua et aliquando mori. Et si est a causa celesti, similiter volatilia." Unter Reptilien verstand man im Mittelalter und bis in die Neuzeit hinein, dem eigentlichen Sinne des Wortes entsprechend, allerhand Kriechthiere; vielleicht sind hier unter den Reptilien auch Mäuse und Ratten mit gemeint gewesen.

Ebenfalls nichts als eine erweiterte Wiedergabe der Sätze Avicenna's sind die Mittheilungen über das Verhalten von Thieren vor einer Pest, die einige abendländische Aerzte des 13. Jahrhunderts bringen. Die medicinischen Schriftsteller jener Zeit waren Compilatoren. Der Satz Guy de Chauliac's (1350) über die chirurgischen Autoren seiner Zeit: Sequuntur

---

[1] Aehnlich (ob als Quelle für Avicenna?) schreibt schon Aristoteles in seinen Problemata Sectio I Quaestio 22, dass ein krankheitsreiches Jahr (νοσώδης ἔτος) zu erwarten ist, wenn kleine krötenartige Frösche häufig sind.

[2] Ali Abbas, *Liber totius medicinae.* Lugduni 1523. Theoricae lib. V. Cap. 11.

[3] Ibnulkhatib, s. Abdruck bei Müller, *Sitzungsbericht der Königl. bayer. Akademie der Wissenschaften.* 1863. Bd. II. S. 1ff.

[4] Joannes Filius Mesue, Opera. Venedig 1484. *Liber de medicinis febr. putrid.* Cap. 6.

se sicut grues; unus non dicit nisi quod alter, gilt ebenso für die Schriftsteller auf den anderen Gebieten der Medicin. Man liest bei Bernhard Gordon[1] (um 1300): cum aves dimittunt nidos et ova et cum reptilia multa apparent supra terram: ista quippe sunt signa epidemiae futurae. Wilhelm Placentinus de Saliceto[2] schreibt um dieselbe Zeit: Signa quae significant pestilentiam sunt multiplicatio animalium et vermium in terra quae generantur et fiunt ex putrefactione ut sunt ranae: et specialiter ranae parvae, quae apparent hora pluviae; cum caliditas intensa est in aere et fuga animalium quae habitant sub terra ad superficium terrae, ut sunt mures terrei qui talpae appellantur; et fuga animalium volatilium a nidis suis et ova in nidis dimittere. Ein anderer Zeitgenosse, Arnald von Villanova[3] sagt ganz ähnlich: Multiplicantur animalia ex putredine generata sicut sunt formicae alatae, muscae et huiusmodi apparent, et apparent supra terras modi mirabiles animalium et serpentum quae fugiunt a locis suis propter vehementem aeris corruptionem, aves etiam, quae quandoque de die volare consueverunt, de nocte quandoque volant et dimittunt nidos suos et ova, Sätze, die er weiterhin noch variirt, ohne jedoch die Mäuse und Ratten irgendwo mit Namen zu nennen. Ich komme später noch auf diese Autoren zurück. Gleich hier möchte ich aber darauf hinweisen, dass keiner von ihnen den für uns wichtigsten Satz Avicenna's, nämlich den, „die Mäuse bewegen sich wie trunken umher", wiederholt. Entweder verstand man ihn nicht mehr oder man hielt ihn für nebensächlich. Schon die fast übereinstimmende Fassung der übrigen Sätze zeigt, dass sie nicht original sind; ausserdem ist es zweifelhaft, ob die Autoren die echte Beulenpest selbst zu beobachten überhaupt Gelegenheit hatten.

IV.

Mit der grossen Pestseuche des 14. Jahrhunderts, die wir jetzt als schwarzen Tod zu bezeichnen pflegen, beginnt die Pestlitteratur reichlicher zu fliessen und in Folge der Bearbeitung durch neuere Autoren zum Theil wenigstens leichter zugänglich zu werden. Die Schriftsteller des Abendlandes fanden nun allgemein Gelegenheit, eigene Erfahrungen über die Pest zu sammeln. Zudem war, wie es scheint, mit dem 11. Jahrhundert eine neue Einwanderung von Ratten (Mus alexandrinus?)[4] aus Asien nach Europa erfolgt.

[1] Bernardus Gordonius in *Medici antiqui, graeci, latini atque arabes qui de febribus scripserunt.* Venedig 1594. Blatt 215.

[2] Guil. Plac. de Saliceto, *Summa conservationis et curationis.* Venedig 1502. S. 85.

[3] Arn. de Villanova, in der gleichen Sammlung wie Note 1. Blatt 252 ff.

[4] Vgl. Schneider, Ueber die einheim. Rattenarten. *Dissertation.* Bonn 1881.




Die Aerzte jener Periode, von denen man doch, so gering man ihre Schulung und ihr Wissen im Allgemeinen auch veranschlagen mag, noch eher als von den Laien eine genaue Beobachtung der Pest erwarten sollte, lassen uns mit Angaben über die Nager während der Seuche fast ganz im Stich. Guy de Chauliac, Simon de Covino und Dionys Colle wie Thomas de Garbo und Gentilis Fulginas erwähnen sie überhaupt nicht, soweit ich ihre Arbeiten kenne. Auch Chalin de Vinario, der nach Rittmann[1] seinen Wohnort, das von der Pest schwer betroffene Avignon, als ein Rattennest[2] bezeichnet haben soll, spricht von den Nagern oder auffallenden Erscheinungen unter ihnen weiter nicht. Ein 1348 erstattetes Gutachten der Pariser medicinischen Facultät äussert sich: Quidam et vidisse se fatentur ranarum et reptilium multitudinem quae ex putrefactione generantur.[3] Dass unter Reptilien auch Mäuse verstanden sein können, wurde oben schon angeführt. Bei Ibn Nafys[4] findet sich als Vorzeichen der Pest im Style der älteren Araber bemerkt „die grosse Menge der Erdthiere und Frösche". Petrus de Tausignana[5] schreibt: Aer efficitur pestilentialis quando vermes et reptilia apparent. Vögel fliehen und ähnlich tunc temporis aliqui serpentes, mures et similia. Auch bei den drei eben genannten Angaben scheint es sich nur um Wiederholungen der von Avicenna aufgebrachten Sätze, nicht um eigene Beobachtungen zu handeln.

Nicht viel fruchtbarer als die Schriften der Aerzte sind die Werke der Laien aus der Zeit des schwarzen Todes.

Die deutschen Chronisten sind von Hoeniger[6] und Lechner[7] eingehend studirt worden. Lechner giebt eine ganze Reihe von Mittheilungen wieder, die zeigen, dass Sterblichkeit unter den Hausthieren während der Menschenseuche öfters bemerkt worden ist; von den Nagern verlautet dabei aber nichts.

Eine wichtige positive Angabe, die schon Haeser[8] citirt hat und

---

[1] Rittmann, *Grundzüge einer Geschichte der Krankheitslehre im Mittelalter.* Brünn 1868. S. 105.

[2] In der Ausgabe der Abhandlung Chalins von Dalechamp, Lugduni 1552, sowie in dem Abdruck des ersten Buches bei Hoeniger (vgl. Note 6) fand ich eine derartige Bemerkung nicht.

[3] Abgedruckt bei Hoeniger (vgl. Note 6) S. 155.

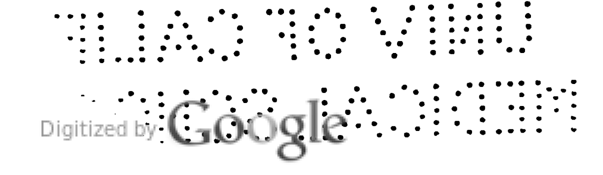
[4] Abgedruckt bei von Kremer, *Sitzungsberichte der phil.-histor. Classe der K. Akademie der Wissenschaften zu Wien.* 1880. Bd. XCVI. S. 71.

[5] Petrus de Tausignana, *Consilium pro peste evitanda.* Venedig 1491.

[6] Hoeniger, *Der schwarze Tod in Deutschland.* Berlin 1882.

[7] Lechner, *Das grosse Sterben in Deutschland 1348—1351.* Innsbruck 1884. (S. 51.)

[8] Vgl. Haeser, a. a. O. S. 163.



nach ihm Nutall und Sticker, liefert ein byzantinischer Geschichtsschreiber aus dem 14. Jahrhundert, Nicephorus Gregoras. Dieser schreibt von der Pest in Constantinopel 1347: „Nec vero homines solos morbus ille usque flagellabat; sed et si quae alia animalia cum hominibus plerumque degerent et habitarent; canes inquam et equos et cuiusque modi avium genera; ipsos etiam mures, si qui forte in domorum parietibus latitabant (*καὶ εἴ τινες ἐν τοῖς τῶν οἴκων τοίχοις οἰκοῦντες ἔτυχον μύες*).[1] Neben anderen Thieren werden hier also auch *μύες* genannt, womit sowohl Mäuse als Ratten gemeint sein können, da das Griechische ein eigenes Wort für Ratte nicht besitzt. Besonders hervorgehoben als bedeutungsvoll werden die Nager unter den anderen Thieren ersichtlich nicht. Nicephorus berichtet übrigens nicht, dass die Mäuse vor der Pest gestorben seien, wie Sticker angiebt, oder dass sie massenhaft zu Grunde gegangen seien, wie Müller und Poech[2] ihn sagen lassen.

Ein anderer zur Zeit des schwarzen Todes lebender Byzantiner, der Kaiser Cantacuzenus[3] schreibt: Multae domus vacuabantur cum et incolae et brutae animantes una cum dominis vitam redderent (*τῶν ἀλόγων τοῖς κυρίοις συναποθανόντων*). Unter den brutis mögen Ratten und Mäuse mit gemeint sein, obschon man gemeiniglich nicht zu behaupten pflegt, dass diese Thiere Herren besitzen.

Boccaccio, ebenfalls ein Zeitgenosse des grossen Sterbens im 14. Jahrhundert, erzählt in der Einleitung zu seinem Decamerone, jedes Thier, das Dinge berührte, die einem Pestkranken gehört hatten, sei gestorben. Ohne Ratten und Mäuse zu erwähnen, berichtet er dann aber Näheres nur von zwei Schweinen, die er, nachdem sie auf der Strasse Lumpen eines an Pest Gestorbenen durchwühlt hatten, selbst habe sterben sehen, come se veleno avesser preso. — Von der Pest in Piacenza 1385 theilt das zu gleicher Zeit geschriebene Chronicon placentinum des Joh. de Mussis[4] mit: Decessit maior pars bestiarum bovinarum . . .; et etiam maxima summa pullorum et gallinarum ex morbo contagioso tantum, quia ubi incipiebat mori, omnes seu quasi moriebantur. Eine andere Chronik[5]

---

[1] Nicephorus Gregoras. ed. Niebuhr. Bonn 1830. *Corpus scriptor. histor. byzant* Pars XIX. Bd. II. S. 797.

[2] Müller u. Poech, Die Pest. Nothnagel's *Specielle Pathol. u. Therapie.* Wien 1900. S. 90.

[3] Cantacuzenus, *Histor.* lib. IV. Cap. 8. ed. Niebuhr (vgl. Note 1). Pars XX. Bd. III. S. 51.

[4] Joh. de Mussis, Chronicon placentinum; abgedruckt bei Muratori (vgl. S. 97, Anm. 1). Bd. XVI. S. 546.

[5] Abgedruckt bei Muratori (vgl. S. 97, Anm. 1). Bd. III. Pars II. S. 556.



meldet von der Pest des Jahres 1348: Moriebantur . . . . etiam canes, catti, galli et gallinae cum ceteris ibidem morantibus quibuscumque. Da hier einmal einzelne Thierarten besonders genannt werden, wären wohl Ratten und Mäuse auch erwähnt worden, wenn sie in auffallender Weise an dem allgemeinen Sterben betheiligt gewesen wären. — Schnurrer setzt in seiner „Chronik der Seuchen"[1] für das Jahr 1382 Pest und Mäuseplage, die zu Weihnachten plötzlich schwindet, an, ohne aber einen Zusammenhang zwischen beiden zu erwähnen. Was Lersch in seiner „Geschichte der Volksseuchen" (Berlin 1896, S. 149) anzieht, betrifft Viehseuchen, die gleichzeitig mit der Pest ohne Beziehung zu ihr auftraten. Boghurst hat nach Clemow[2] mitgetheilt, dass während des schwarzen Todes in London kein wildes oder zahmes Thier eingegangen sei. Campi's[3] Angabe, dass creature umane et anche animali erkrankten, besagt nichts Genaues.

Nuttall und Sticker führen an, dass li Muisis, Abt in Doornik, mit dem schwarzen Tode in Flandern 1349 ein Sterben der Mäuse, Ratten und Hunde habe einhergehen sehen. Haeser[4], dem sich Nuttall und wohl auch Sticker in ihrem Citate anschliessen, bringt dieselbe Angabe. Es handelt sich hier um einen Irrthum: Li Muisis schreibt nichts von Ratten und Mäusen. Er sagt[5]: Et in multis domibus canes etiam et murilegi moriebantur. Ein murilegus (von mus und legere, sammeln) ist eine Katze. Haeser scheint nach der von ihm gebrachten Fussnote die Chronik des li Muisis selbst nicht gelesen zu haben und durch Benutzung einer schlechten Quelle zu seiner irrthümlichen Angabe gekommen zu sein.

Soviel aus der Zeit des schwarzen Todes. Wie man sieht, berichtet nur ein einziger Autor, Nicephorus Gregoras, in unzweideutiger Weise von einem Sterben der Ratten und Mäuse während der Pest, ohne ihm jedoch irgendwelche besondere Bedeutung beizulegen.

V.

Nach dem Schwarzen Tode, dessen Nachwehen erst mit dem 14. Jahrhundert endeten, ist Europa bis in den Anfang des 18. Saeculums ganz

[1] Tübingen 1823. Theil I. S. 350.

[2] Clemow, *Brit. med. Journ.* 1900. Nr. 2055. p. 1219.

[3] Cit. nach Henschel, Haeser's *Archiv für die ges. Medicin.* 1842. Bd. II. S. 42.

[4] Vgl. Haeser, a. a. O. S. 120.

[5] Aegid. li Muisis, Chronica, abgedruckt in de Smet, *Recueuil des chroniques de Flandres.* Bd. II S. 93 ff. (Das Citat auf S. 381.)



von der Pest wohl kaum je frei gewesen. Allerdings verstecken sich unter den damals üblichen Namen Pestis, Pestilentia, Febris pestilentialis u. s. w. ausser der Bubonenpest auch andere Seuchen, wie Typhus abdominalis und exanthematicus, Recurrensfieber, Dysenterie, Influenza, wohl auch Cholera und viele mehr. Aber die auf uns gekommenen Beschreibungen lassen doch mit Sicherheit nachweisen, dass zahlreiche Epidemieen jener Zeiten der echten Bubonenpest angehört haben.

Unsere Vorfahren haben also reichlich Gelegenheit gehabt, die Pest zu beobachten. Wie sehr die Seuche sie beschäftigt hat, lehrt uns die fast unübersehbare Zahl der Veröffentlichungen, die sie ihr gewidmet haben. Neben Berichten von Laien, aus denen wir bisweilen über Umfang, Art und Verbreitung der Epidemieen Mittheilungen entnehmen können, finden wir von Geistlichen verfasste Abhandlungen, in denen die Pest als Gottesstrafe gewürdigt wird. Neben Erlassen der Behörden zur Verhütung und Unterdrückung der Pest finden wir aufklärende Schriften von Aerzten in ungeheurer Zahl.

Wenn wir nun diese Veröffentlichungen, unter denen natürlich in erster Linie die von Aerzten herstammenden uns interessiren, aber auch manche von Laien geschriebenen lehrreich sind, nach Angaben über Ratten und Mäuse durchsuchen, so begegnen wir solchen gar nicht selten: in welchem Zusammenhange und in welcher Form, wird sich am Besten bei Wiedergabe einer Anzahl von Stellen erkennen lassen. Ich liefere im Folgenden zunächst das eine von Sticker gebrachte Citat aus der uns jetzt beschäftigenden Zeit, dann die zwei bei Nuttall abgedruckten Sätze und lasse eine Reihe weiterer von mir aufgefundener Angaben folgen.

Nach Sticker führt Thour 1720 als Zeichen künftiger Pestilenz an „allerhand Ungeziefer, Raupen, Schnecken, Mäuse in Aeckern“.[1] — Nuttall citirt Skene (1568), dem folgende Zeichen das Herrannahen der Pest bedeuten: Wenn Maulwurf und Schlange die Erde verlassen, belästigt durch die Dämpfe im Schoosse derselben“, und „wenn Hausgeflügel an Pestilenz erkrankt, so ist das ein Zeichen dafür, dass sehr gefährliche Pest folgen wird“. — Lodge äussert sich 1603 nach Nuttall: „Wenn Ratten, Maulwürfe nnd andere Thiere, deren Gewohnheit es ist, unter der Erde zu leben, ihre Höhlen und Wohnungen verlassen, so ist das ein Zeichen, dass darin Fäulnissprocesse vor sich gehen“. — Dazu füge ich folgende Angaben: Stromer von Aurbach[2] schreibt 1517: Vor der Pest „er-

[1] In diesem wie in allen ferneren Citaten aus der älteren deutschen Litteratur wende ich moderne Orthographie wegen des leichteren Verständnisses an, behalte aber die Worte des Textes selbst durchweg bei.

[2] Stromer von Aurbach, *Regiment, wie sich wider die Pestilenz zu bewahren.* Leipzig 1517.



wachsen überflüssiger grosser Zahl giftige Thiere, Mäuse, Ratten, Schlangen, Fliegen, Raupen u. s. w., wie wohl dieselben ihren Aufenthalt in Höhlen unter der Erde haben, doch so die Erde fault und Ursache ist der Pestilenz, entfliehen sie aus ihren Schlupflöchern und kommen uns oft und viel zu Gesicht". — Colbenschlag[1] 1525: „So viel unzählige, vergiftete Würmer und Thiere erwachsen, als Schlangen, Ratten, Mäuse, Schnecken, Raupen, Fliegen und dergleichen, todte Fische und Frösche im Wasser, alsdann ist auch zu besorgen zukünftige Pestilenz oder Sterben". — Castner[2] führt 1542 an, dass vor der Pest Spitzmäuse, Maulwürfe u. s. w. ihre Höhlen verlassen. — Fracastorius (vgl. S. 95, Anm. 1) 1550: Wenn die Pest droht, animalia, quae sub terra degunt, solent nonnulla infectionem significare, cum multa eorum e latibulis et propriis laribus in apertum exeunt. — Gratiolo di Salo[3] 1576: Pest naht, quando vedremo che le locuste, gli vermi, i topi . . . . . si moltiplicano. — Bökel[4] empfiehlt 1597, vor der Pest zu fliehen, denn auch „Vögel, Krähen, Erdmäuse und andere thun es". — Herlicius[5] nennt 1621 als Vorzeichen der Pest Vermehrung der Mücken, Mäuse, Fliegen. — Hodges[6] behauptet 1672, vor der Pest sei „nitrum" in der Erde „ita ut animalcula subterranea, videlicet mures, talpae, serpentes, cuniculi, vulpes etc. malum futurum praesentientia, latebras et cavernas deserant et sub dio in medium prodeant, se cautius subtrahentia a periculo et pestem idcirco imminere praesagientia: Hinc subitanea piscium interemptio: hinc quoque aves, ingruente lue, volatu opportuno sibimet consulere solent." — Von Rivinus[7] wird 1681 als Zeichen zukünftiger Pestilenz unter anderem aufgeführt „murium agrestium insolita turba", doch scheint der Verfasser selbst nicht recht daran zu glauben.

Was kann man nun aus solchen Angaben, die ich sogleich noch durch eine ganze Anzahl ähnlicher vermehren könnte, für Folgerungen ziehen?

Auf den ersten Blick könnte man geneigt sein, zu schliessen, wie Nutall und Sticker es auch wirklich gethan haben[8], dass nach dem

[1] Colbenschlag, *Ein sehr tröstlich und kurz Regiment wider die Pestilenz.* Zwickau 1525.

[2] Castner, *Wie man sich in Pestilenz-Sterbsläuften bewahren möge.* Nürnberg 1542.

[3] Gratiolo di Salo, *Discorso di peste.* Venedig 1576. p. 149.

[4] Bökel, *Pestordnung der Stadt Hamburg.* Daselbst 1597. Blatt 10.

[5] Herlicius, *Consil. politico-physicum etc.* 4. Aufl. Zittau 1680. S. 155.

[6] Hodges, *Loimologia.* London 1672. S. 150.

[7] Rivinus, *Dissert. de lipsiensi peste anni* 1680. Leipzig 1681. S. 43.

[8] Es soll das kein Vorwurf sein. Aus den wenigen Angaben, die ihnen bekannt waren, konnten Nuttall und Sticker gar keinen anderen Schluss ziehen; erst wenn man eine grössere Anzahl von Mittheilungen über die Nager liest, drängen sich die im Text ausgeführten Ueberlegungen auf.



schwarzen Tode bis zum Ende der grossen Pestepidemieen in Europa eine Betheiligung der Ratten und Mäuse an der Pest ganz allgemein und oft beobachtet worden sei. Aber gegen die Zulässigkeit einer solchen Schlussfolgerung müssen doch bei näherer Betrachtung der Angaben sofort schwere Zweifel aufsteigen. Achtet man auf die so bemerkenswerth gleichmässige, man möchte fast sagen stereotype Form, in der die Mittheilungen über das Verhalten der Nager immer wiederkehren; betrachtet man den überall gleichen und dabei so auffallend gedankenarmen Inhalt dieser Mittheilungen, die, eine wie die andere, in oft fast gleichlautenden Worten und ohne irgend welche Einzelheiten beizubringen, besagen, ein Vorzeichen der Pest sei es, dass die Ratten und Mäuse sich vermehren oder dass sie ihre gewohnten Schlupfwinkel verlassen: so gewinnt man, je mehr Angaben von der Art der citirten man vor Augen bekommt, je öfter und genauer man sie durchmustert, immer stärker den Eindruck, dass sie alle nicht auf eigenen Beobachtungen der Autoren fussen, sondern nichts sind als Reproductionen eines allgemeinen Lehrsatzes, der, aus älterer Zeit herstammend, von einem Schriftsteller auf den anderen sich vererbt hat.

Wäre dem nicht so, handelte es sich bei den Angaben über das Verhalten der Ratten und Mäuse um eigene Wahrnehmungen der Schriftsteller, so müsste man zunächst doch erwarten, dass wenigstens ein Autor einmal erzählt, ihm selbst seien auffallende Vermehrung oder Unruhe unter den Nagern vor und während einer Pestepidemie aufgestossen. Eine Bemerkung dieser Art findet man aber weder bei einem der citirten Autoren, noch bei irgend einem anderen mir bekannten Schriftsteller der Zeit bis in das 18. Jahrhundert hinein, sei er nun Arzt, sei er Laie. Immer wieder kehrt nur der allgemeine Satz: Vor der Pest vermehren die Ratten und Mäuse sich oder fliehen sie aus ihren Höhlen. Wollte man einwenden, die Erscheinungen unter den Nagern seien eben etwas so Bekanntes gewesen, dass Niemand es für nöthig gehalten habe, eigene Beobachtungen darüber besonders zu erwähnen, so möchte ich demgegenüber auf Folgendes hinweisen: Ein alter Lehrsatz, der wohl noch weit älter ist als der von den Ratten und Mäusen, besagt, dass vor dem Ausbruch einer Pest, einer Seuche überhaupt, die Vögel eilends von dannen ziehen. Schon Thukydides[1] erzählt derlei von der Seuche zu Athen während des peloponnesischen Krieges, Lukrez[1] schildert ähnliches, auch Avicenna (vgl. S. 98) spricht davon. In dem uns eben beschäftigenden Zeitabschnitte, dem 15—18. Jahrhundert, finden wir den Satz von dem Fliehen der Vögel als Vorzeichen der Pest fast eben so häufig erwähnt, wie den von dem Fliehen der Mäuse, ja manche Schriftsteller verwenden sogar beide

[1] Vgl. Thukydides und Lukrez, S. 95, Anm. 2.

Erscheinungen differentialdiagnostisch für die Entscheidung über die Herkunft der Pest: Kommt sie aus der Luft, so fliehen die Vögel, stammt sie aus der Erde, so fliehen die Mäuse und andere Erdtiere. Hat nun einer der Autoren, die den Satz von der Flucht der Vögel bringen, wirklich selbst etwas derartiges beobachtet, so berichtet er auch, ich selbst habe dies dann und dann dort und dort gesehen. Muss man nicht annehmen, dass die Autoren ebenso ihre Beobachtungen über das Verhalten der Nager mitgetheilt hätten, falls sie wirklich einmal selbst diese Thiere hätten fliehen sehen?

Und weiter: Nach den übereinstimmenden Angaben der Autoren zeigen nicht blos die Mäuse und Ratten, also die Thiere, die wir heute als hervorragend pestempfänglich kennen, durch auffallende Vermehrung oder durch das Verlassen ihrer gewohnten Schlupfwinkel das Nahen der Pest an, sondern auch zahlreiche andere Thiere, wie Frösche, Kröten, Eidechsen, Schlangen, Mücken, Ameisen, Raupen, Schnecken, Füchse, allerhand Vögel, ja selbst Krokodile und Drachen! Nun wissen wir nach unseren heutigen Erfahrungen doch, dass alle diese Thiere nicht unter der Pest zu leiden und auch mit ihrer Verbreitung nichts zu thun haben; und sicher werden sie sich früher nicht anders verhalten haben. Niemand wird daher glauben, dass die Autoren die von ihnen berichteten Erscheinungen unter diesen Thieren selbst gesehen haben. Man wird ohne weiteres annehmen, dass es nur auf Grund alter überlieferter Angaben, allgemeiner Lehrsätze geschieht, wenn sie erzählen, dass die angeführten Erscheinungen unter diesen Thieren das Nahen der Pest andeuten. Wäre es da nicht zu erwarten, dass die Schriftsteller, falls sie die Nager wirklich hätten fliehen und zahlreicher werden sehen, diese vor den anderen Thieren, bei denen sie so etwas nicht bemerkten, besonders hervorgehoben haben würden? Muss man nicht folgern, nur deshalb haben ihnen die pestempfänglichen Nager und die pestunempfänglichen anderen Thiere, die sie nennen, ganz den gleichen Werth als Künder nahender Pest gehabt, weil sie von den einen so wenig wie von den anderen die ihnen nachgesagten Erscheinungen wirklich gesehen haben?

Endlich aber: Ist es nicht in hohem Maasse auffällig, dass kein Autor mehr von den Ratten und Mäusen zu sagen weiss, als in ganz kurzen Worten zu erzählen, dass sie vor der Pest sich vermehren und vor ihr fliehen? Handelte es sich bei diesen Mittheilungen um den Ausdruck eigener Wahrnehmungen, würde dann nicht einer näher ausgeführt haben, wie die Thiere aus den Häusern plötzlich verschwinden, wie sie bisweilen in ganz ungewöhnlicher Weise ans Licht hervorkommen, wie sie da umherwanken, und vor allen Dingen, dass sie in Pestzeiten auch zahlreich sterben? Von diesen Erscheinungen, besonders aber von einem Sterben



der Ratten und Mäuse in oder vor einer Pest spricht jedoch kein einziger mir bekannter Autor vom 15. Jahrhundert bis zum Anfang des 18. in deutlicher Weise. Nur einige wenige Angaben kenne ich aus der ganzen grossen Litteratur dieser Zeiten, aus denen vielleicht Jemand etwas derartiges möchte entnehmen wollen. Ich bringe sie alle drei im Folgenden wörtlich, damit der Leser sich selbst ein Urtheil bilden kann.

Die erste findet sich bei Joh. Michael Savonarola[1] (ca. 1400 bis 1450): Er berichtet erst, multiplicari ranas, mures, muscas, cimices et huiusmodi animalia quae ex putrefactione generantur; ferner mures et alia animalia loca habitantia subterranea fugere ab illis etc.; volatilia nidos deserere etc. Dann: Signa quod sit a terra (scil. pestilentia), quia animalia in terris accubare consueta fugiunt loca sua et ad alia vadunt et quaerunt loca altera. Item reperiuntur ex eis plurima supra terram mortua. — Die zweite stammt von Massa[2] (ca. 1500) her und lautet: Terrae putrefactae signa sunt animalium ex putredine nascentium multiplicatio, ut sunt mures, ranae terrestres . . . ., serpentes ac vermes etc. . . . . praesertim si minime in illis locis nasci consuevere. Ista enim vel imprimis ostendunt putredinem terrae, per quam futuram pestem dubitare non oportet et est signum vulgare ac rationabile, quod si cum istis quoque animalia in cavis terrae degentia derelictis subterraneis cavernis aufugiunt, ut sunt talpae, cuniculi, lepores, vulpes et huiusmodi, vel si mortua per silvas et nemora vel prata (NB. nicht Häuser oder Strassen!) inveniantur, tunc certam pestem futuram ex terrae corruptione enuntiat, et eo magis, si pascua animantibus mortifera aut insalubria videris. — Der Verfasser der dritten Angabe ist Ambroise Paré[3], der berühmteste Chirurg des 16. Jahrhunderts. Er schreibt: Magnis agminibus talpae, bufones, viperae, colubri, lacertae, aspides, crocrodili migrare cernuntur . . . . Quin etiam earum (scil. ferarum) quae minus mature et opportune sibi caverit, malignae subterraneae aurae veneno pestifero suffocata non in specubus modo sed et in camporum planitie passim occurrunt cadavera.

Die Sätze der drei Autoren sind, wie man sieht, in so unbestimmten Ausdrücken gehalten, dass man wirklich nicht aus ihnen folgern kann, ihren Verfassern sei eine besondere Sterblichkeit speciell der Mäuse und Ratten vor und in Zeiten der Pest bekannt gewesen. Vielmehr gewinnt man den Eindruck, als wenn nach Ansicht der drei Schriftsteller aller-

[1] Joh. Michael Savonarola, *Canonica*. Lugduni 1560. p. 207 u. 215.

[2] **Massa**, *de peste*. Ausgabe von 1721. London. S. 40.

[3] Ambrosius Paraeus, *Opera chirurgica*. Frankfurt a/M. 1594. — In *liber de peste*. S. 610.



hand Thiere des Feldes und Waldes durch die Pest in gleicher Weise gefährdet seien. Irgend welche Mittheilungen über die Ratten und Mäuse in den Häusern findet man hier so wenig wie bei einem anderen Autor jener Zeiten. Und endlich fehlt auch hier wieder jedes Zeichen dafür, dass die Autoren die von ihnen berichteten Erscheinungen selbst gesehen haben.

Nach allen diesen Erwägungen kann man sich der Erkenntniss nicht verschliessen, dass thatsächlich alle die in den Schriften des 15.—18. Jahrhunderts so zahlreichen Mittheilungen über die Erscheinungen unter den Ratten und Mäusen vor einer Pest nicht eigenen Beobachtungen ihre Entstehung verdanken, sondern die Wiedergabe allgemeiner Lehrsätze darstellen, die von früheren Schriftstellern übernommen waren. Bücherweisheit ist es ja zumeist, die uns die medicinischen Schriftsteller unter unseren Vorfahren als Kern ihrer Ausführungen bieten. Wer am gründlichsten in der Litteratur belesen war und die meisten Citate aus Werken berühmter Aerzte in seinen Schriften brachte, galt als der tüchtigste Arzt. In treulichem Autoritätsglauben ihm gleich, schrieben seine Nachfolger mit oder ohne Quellenangabe, was er gesagt hatte, wieder nach, und so vererbten sich alte Anschauungen, ohne neu geprüft zu werden, von Geschlecht zu Geschlecht weiter fort.

Fragt man, von wem denn zuerst der Satz von dem auffallenden Verhalten der Ratten und Mäuse vor der Pest aufgebracht worden ist, so wird man bei unserer unvollständigen Kenntniss der älteren Litteratur eine sichere Antwort auf diese Frage zu erhalten kaum erwarten dürfen. Sehr viel Wahrscheinlichkeit hat es für sich, dass die Angaben Avicenna's, die auf S. 97 besprochen worden sind, die Quelle für die späteren Autoren abgegeben haben. Mit Avicenna's Schilderungen beginnen die Mittheilungen über die Mäuse in der Pest. In der folgenden Zeit haben dann der jüngere Mesue um 1100, Gordonius, Placentinus de Saliceto und Arnaldus de Villanova um 1300, wie S. 98—99 gezeigt, ganz augenscheinlich Avicenna abgeschrieben (oder auf dieselben Quellen wie er sich gestützt). In den späteren Zeiten war Avicenna immer ein viel gelesener Autor, dessen Anschauungen über die Pathologie der Pest vielfach Verbreitung, Anerkennung und Beifall fanden. So gut wie man seine Aeusserungen über die Pest in anderen Punkten abschrieb, eben so gut kann man auch seine Angaben über das Verhalten der Ratten, Mäuse und anderer Thiere vor der Pest übernommen haben. Recht bezeichnend ist es aber, dass keiner der späteren Autoren den für das Verhalten der Nager in der Pest so sehr bezeichnenden Satz Avicenna's, dass die Thiere sich wie trunken umherbewegen, wiedergegeben hat. Es scheint mir in dieser Unterlassung ein weiterer Beweis dafür zu liegen, dass man



später über das Verhalten der Ratten und Mäuse in der Pest keine eigenen Beobachtungen mehr gemacht hat, sonst würde man doch gerade den wichtigsten Satz aus Avicenna's Angaben nicht fortgelassen, sondern mit besonderer Vorliebe immer wieder gebracht haben!

Vielleicht könnte es trotz allem Angeführten doch dem mit dem Schriftwesen früherer Zeiten und seiner stereotypen Art wenig vertrauten Leser auffallend erscheinen, dass so zahlreiche Autoren den Satz von ned Ratten und Mäusen gebracht haben, obwohl, wie ich im Vorausgehenden darzulegen mich bemüht habe, doch keiner von ihnen eigene Beobachtungen gemacht hat. Da muss man nun bedenken, dass der Lehrsatz schon deshalb mit so grosser Beharrlichkeit immer wieder citirt worden sein wird, weil er ein vorzügliches Beweisstück in der Lehre von der Pathogenese der Pest bildete. Die Seuche entstand nach der allgemein angenommenen Ansicht durch Fäulniss der Luft, die zu Stande kam entweder durch überirdische Einflüsse oder durch Zersetzungsvorgänge in der Erde. Im faulenden Erdboden entwickelten sich aber nach den Lehren der alten Physiologie durch generatio spontanea allerlei niedere Thiere, zu denen auch die Mäuse gerechnet wurden.[1] Vermehrung der Mäuse deutete also auf Fäulniss der Erde, die wiederum Fäulniss der Luft und damit die für die Pestentstehung nöthige Vorbedingung schaffte. Andererseits zeigte auch ein Fliehen der Mäuse Fäulnissprocesse in der Erde an. Den Mäusen und Ratten kam nach allgemeiner Ansicht ein ganz besonderes Ahnungsvermögen für nahendes Unheil zu. Dass schon Plinius so dachte, habe ich S. 96 bereits gezeigt. Aelian[2] erzählt, dass die Mäuse die Stadt Helice verliessen, kurz bevor sie durch ein Erdbeben zerstört wurde. Baglivi[3] ist um 1700 noch überzeugt davon, dass die Mäuse Erdbeben voraus wissen und dementsprechend ihr Verhalten einrichten. Der gelehrte Unzer[4] hält es selbst um 1750 noch für denkbar, dass Ratten eine Feuersbrunst voraussehen, und noch heute glaubt mancher Seemann, dass die Ratten, weil sie den Untergang vorherzusehen vermögen, Schiffe meiden, die sinken werden. Ebenso wussten die Ratten und Mäuse nach den alten Anschauungen die Fäulniss der Erde, die zur Pest führen würde, im Voraus oder bemerkten sie wenigstens früher als die Menschen und entzogen sich ihrem schädlichen Einflusse durch die Flucht.

[1] So wiederholt Conrad Gesner in seiner *Historia animalium*. Tiguri 1551. Buch I. S. 831 noch ganz gläubig die Erzählungen von Aelian und anderen alten Schriftstellern, dass man in Aegypten im faulenden Nilschlamm bisweilen im Entstehen begriffene, halbfertige Mäuse finden könne.

[2] Citirt nach Wegner, a. a. O. S. 27.

[3] Baglivius, *Opera omnia*. Nürnberg 1751. S. 538.

[4] Unzer, *Sammlung kleiner Schriften. Physikalische.* Rinteln u. Leipzig 1766. S. 285.



Die Theorie also lehrte, dass die Pest aus Fäulniss des Bodens hervorgeht. Gemäss dem Stande der naturwissenschaftlichen Erkenntniss bis in das 18. Jahrhundert hinein mussten, wenn die Theorie richtig war, dem Ausbruche der Pest diejenigen Erscheinungen vorausgehen, die als Ausdruck der Erdfäulniss galten, d. h. Vermehrung der unterirdischen Thiere und Flucht derselben aus der faulenden Erde. Die Angabe, dass diese Erscheinungen vor der Pest vorhanden seien, fanden die Schriftsteller bei ihren Vorgängern. Wer von ihnen hätte es sich da wohl entgehen lassen, diese Angabe, die eine so vortreffliche Stütze für die Lehre von der Entstehung der Pest aus der Bodenfäulniss bildete, zu wiederholen, auch wenn er selbst nichts Aehnliches zu sehen bekommen hatte?

VI.

Durch die vorausgehenden Darlegungen glaube ich bereits in überzeugender Weise klar gestellt zu haben, dass man in Europa während der grossen Pestepidemieen vom schwarzen Tode bis ins 18. Jahrhundert Beobachtungen über eine Betheiligung der Ratten und Mäuse an der Pest nicht gemacht hat. Sollte aber Jemand die dafür beigebrachten Beweise doch noch nicht für zwingend halten, so werden ihn die folgenden Mittheilungen überzeugen, die deutlich bekunden, dass selbst wohlerfahrene Beobachter jener Zeiten nichts von der uns jetzt geläufig gewordenen Empfänglichkeit der Ratten und Mäuse für die Pest geahnt haben.

Evvich[1], ein Arzt, der die Pest in Italien gesehen hatte, schreibt 1582: Canes, feles, caprae aliaque cicura animalia ferendi non sunt vel certe domi continendi. Wenn sie auch nicht immer selbst erkranken, so können sie doch den Pestansteckungsstoff im Fell verschleppen. Quam ob rem quae contineri non facile queunt, ut feles, occidi praestat, quam tolerari et harum loco decipulis uti.

Ganz ähnlich liest man bei Herlicius[2], der 1621 seine Pesterfahrungen niederschrieb, man solle beim Nahen der Pest Katzen, Hunde, Gänse u. s. w. aus der Stadt bringen, „wiewohl man .... die Katzen wegen der Mäuse nicht entrathen kann“.

Beide Autoren haben also ganz augenscheinlich keine Ahnung davon, dass in Pestzeiten auch ohne Benutzung von Fallen und ohne die gütige Mitwirkung der Katzen die Ratten und Mäuse von selbst das Zeitliche segnen!

[1] Joh. Evvich, *De officio fidelis et prudentis magistratus tempore pestilentiae.* Neapoli Nemetum 1582.

[2] Vgl. Herlicius, a. a. O.



Herlicius widerräth auch, wie schon Castner[1] 1542, Kadaver von Hühnern, Katzen, Ratten u. s. w. auf Misthaufen oder Strassen zu werfen, wie es üblich war; denn ihr Gestank verunreinige die Luft und fördere die Pest. Auch hier, wo es doch so nahe gelegen hätte, geben aber beide Autoren keinerlei Hinweis darauf, dass etwa die Ratten in Pestzeiten besonders zahlreich sterben, während beide eine Vermehrung der Nager als Vorzeichen der Pest erwähnen.

Diemerbroeck[2], dem wir eines der besten älteren Werke über die Pest verdanken, schreibt von seinen Erfahrungen zu Nymwegen 1636/37: „Si forte hic vel illuc aves quasdam domesticas, vel etiam nonnullos canes (quod tamen rarum erat) pestis corripuerit, quia tamen inter bruta non fuit communis, non debet inde concludi pestem inter bruta dominatum fuisse; nam boves, equi, oves, cuniculi, columbae, porci, aliaque huiusmodi animalia tam immunia a peste fuerunt, ut ne unum quidem peste mortuum fuisse noverim, immo ipsi etiam feles et canes, quos maxime pestilenti contagio infici credunt, rarissime infecti sunt, quemadmodum etiam paucissimae gallinae; de sylvestrium brutorum strage toto hoc tempore nihil audivimus". Mäuse und Ratten hält er mithin gar nicht für erwähnenswerth, während er über die Empfänglichkeit der Vögel für Pest einige Seiten später nochmals ausführlich sich äussert. Als er an anderer Stelle empfiehlt, für Reinheit der Brunnen zu sorgen und dabei erzählt, zu Nymwegen seien in einen Brunnen während einer Nacht über 40 Rattenkadaver hineingeworfen worden, kommt er gar nicht auf den Gedanken, dass diese Thiere etwa der Pest erlegen sein könnten, sondern vermuthet, sie seien „durch Gift getödtet worden".

Helwig[3], Professor in Greifswald, ein überaus fleissiger und erstaunlich belesener Compilator, hat 1683 keinerlei Kenntniss von der Empfänglichkeit der Ratten und Mäuse für die Pest, so dass er sie bei seiner Aufzählung der an Pest erkrankenden Thiere gar nicht erwähnt. Dann sagt er bei Besprechung der angeblichen Vorzeichen der Pest: „Die Menge der Mäuse u. s. w. können an sich und so lange sie leben keine Pest, wohl aber theure Zeit und daher Gelegenheit zu bösen klebenden (= ansteckenden) Krankheiten verursachen; ja, wenn sie sterben und faulen, einen üblen Geruch und dadurch endlich, ceteris paribus, eine Pest verursachen und bedeuten". Beispiele, mit denen er sonst stets bei der Hand ist, bringt er dafür aber nicht bei. Dass faulende Kadaver die Luft inficiren, war eine allgemeine Lehre; dadurch erklärte man sich z. B. die

[1] Vgl. Castner, a. a. O. S. 104.
[2] Isbrand de Diemerbroeck, *De peste libri* IV. Arenaci 1646. S. 8, 12, 92.
[3] Helvigius, *Consilium medicum de peste.* Stettin 1683. S 36, 42.



Häufigkeit pestartiger Krankheiten nach Kriegen. Dass Helwig nichts von einem Sterben der Mäuse an und während einer Pest zu erzählen weiss, deutet an, dass er auch nirgends etwas davon trotz seiner riesigen Litteraturkenntniss gelesen haben wird.

Rivinus[1] berichtet von der Pest zu Leipzig 1680. Dabei theilt er mit, dass Katzen und Hühner von anderen Autoren als pestempfänglich bezeichnet worden seien, ohne dass er selbst derartiges zu berichten weiss. Er erzählt ferner: „Scio puellas a cane, mulierem a mure perterritas illico in pestilentiam indicisse". Von Infectiosität und Sterben der Mäuse bringt er aber nichts, obwohl auch er den alten Satz von der Vermehrung der Mäuse vor der Pest, mit etwas zweifelndem Gemüthe freilich, nachzubeten nicht unterlässt.

Der gelehrte Jesuitenpater Athanasius Kircher[2], der um das Jahr 1650 als Erster der Pest mit dem Mikroskope auf den Leib rückte, leugnet eine Empfänglichkeit von Thieren für Pest überhaupt, „cum contrariam homini constitutionem habeant".

Auch folgende Thatsachen möchte ich, wenn sie auch weniger beweiskräftig sind, anzuführen nicht unterlassen. Gegen Ende des 17. Jahrhunderts hing man in Wien über den Gräbern von Pestleichen, um zu erfahren, ob ihnen noch schädliche Gase entströmten, lebende pestempfängliche Thiere auf: man nahm dazu Hunde, nicht etwa Ratten oder Mäuse.[3] Mead[4] empfiehlt, auf pestverseuchte Waaren, die gelüftet worden sind, zur Prüfung, ob sie ihre Ansteckungsfähigkeit verloren haben, Thiere zu setzen: als Versuchsthiere schlägt er Vögel vor, nicht etwa Ratten oder Mäuse. 1720 machte Deidier[5] in Marseille die ersten Versuche, die Pest vom Menschen auf Thiere zu überimpfen: als Versuchsthiere dienten ihm Hunde, nicht etwa Ratten oder Mäuse.

Man beachte endlich noch, dass alle „Pestordnungen" der Aerzte und Behörden rathen, Hunde, Katzen, Gänse, Schweine abzuschaffen und sich vor ihrer Berührung zu hüten, weil sie an Pest erkranken können oder wenigstens in ihrem Haar- und Federkleide den Ansteckungsstoff der Seuche verschleppen oder endlich durch ihren Gestank die Luft verderben können. Keine Verordnung aber thut der Ratten und Mäuse auch nur mit einem Worte Erwähnung.

[1] Rivinus, *Dissertatio de lipsiensi peste.* Leipzig 1681.

[2] Athan. Kircher, *Scrutinium physico-medicum contagiosae luis quae dicitur pestis.* Leipzig 1659. S. 257.

[3] Vgl. de Sorbait, *Freundl. Gespräch über die Contagion oder Pest.* Berlin und Cölln 1681. 2. Aufl.

[4] Mead, De peste. *Dissertation.* In *Opera medica.* Bd. II. Göttingen 1749. S. 60.

[5] Deidier's Versuchsprotocolle finden sich übersetzt bei Ringebroig, *Von der Pest.* Leipzig und Stendal 1783. S. 308 ff.



Nach alledem wird man mir beipflichten müssen, wenn ich folgere, dass unsere Vorfahren bis in das 18. Jahrhundert hinein aus eigener Anschauung nichts davon gewusst haben, dass die Ratten und Mäuse in einer höchst wichtigen Weise an der Pest betheiligt sein können.

VII.

Die Pestepidemieen von der Mitte des 18. Jahrhunderts an bis in die Jetztzeit interessiren uns weniger als die der vorausgehenden Zeiten, da unser Vaterland gar nicht mehr unter ihnen zu leiden hatte, Westeuropa nur ganz ausnahmsweise und auch Osteuropa immer seltener und seltener, bis endlich Vorderasien und Nordafrika die Hauptstätten der Seuche blieben.

In der Litteratur über die Pesten seit 1720 findet man, abgesehen von den Nachrichten aus Indien, die uns hier nicht beschäftigen sollen, von Ratten und Mäusen herzlich wenig gesagt. Die einzige positive Notiz, die mir bekannt geworden ist, hat Sticker schon kurz erwähnt. Sie stammt von Orraeus[1], der von der Pest in Moskau 1771 sagt: De avibus a plurimis narrabatur, quod minores cantatrices, caveis detentae, in domibus infectis emorerentur, immo, quod mures et glires, quantumvis antea copiosi, disparuerint. Doch fügt er gleich hinzu: sed de his fides apud relatores esto, ein Beweis, dass Erscheinungen unter den Nagern auch damals noch durchaus nicht allgemein beobachtet, daher nicht ohne weiteres glaubwürdig waren und auch in ihrer Bedeutung keineswegs erkannt wurden, da ein Sterben der Stubenvögel für eben so wichtig gegolten zu haben scheint. Samoilowitz[2] hat aus der gleichen Pest nichts ähnliches berichtet, hat seiner Angabe nach auch niemals Vögel inficirt gesehen, dagegen einmal beobachtet, wie eine Katze aus einem pestbefallenen Hause die Seuche in ein anderes verschleppt hat. Martin Lange[3] erlebte den gleichen Seuchenzug in der Walachei. Nach ihm wurden Thiere nicht von der Pest befallen, selbst Hunde und Katzen nicht, die mit Pestkranken in demselben Bette schliefen, noch Hunde und Schweine, die mit Pesteiter, Karbunkelstücken und Bubonenkataplasmen des Versuches halber gefüttert wurden.

Erwähnung verdient eine Mittheilung von Pallas[4]: 1727 drang die Wanderratte (mus decumanus) aus Asien nach Astrachan ein paucis diebus

[1] Orraeus, *Descriptio pestis etc.* Petropoli 1784. S. 63.

[2] Samoilowitz, *Abhandlung über die Pest 1779.* Leipzig 1785. S. 27 u. 34.

[3] M. Lange, *Rudimenta doctrinae de peste.* Ed. II. Offenbach 1791. S. 123.

[4] Pallas, *Novae species quadrupedum e glirium ordine.* Erlangen 1778. S. 92.

ante terrae motum; credulisque haec migratio inter portenta praesaga pestis quae istam urbem deinde (1727—29) vastavit, habita fuit. Es ist aus dieser Angabe nicht ersichtlich, ob Ratteneinwanderung und Pest von den „Leichtgläubigen“ nur wegen des zeitlichen Zusammentreffens in Zusammenhang gebracht worden sind oder ob die Ratten irgendwelche Betheiligung an der Seuche gezeigt haben. Uebrigens finde ich bei den Historiographen eine Beulenpest in Astrachan während der angeführten Zeit nicht angegeben, so dass mir der Charakter der Pest als Bubonenpest zweifelhaft erscheint.

Gestritten hat man sich im 18. Jahrhundert noch vielfach darüber, ob die Vögel von der Pest beeinflusst werden, wie die alten Autoren es behaupteten, auch ob Fliegen und Schmetterlinge durch abnorme Vermehrung das Nahen der Pest verkünden. Der alte Satz von den Erscheinungen unter den Nagern verschwindet dagegen immer mehr.

Interessant ist es, dass di Wolmar[1] nach eigenen Erfahrungen zu erzählen weiss, auf die Pest in Aegypten 1789 sei eine tödtliche Seuche unter den Katzen gefolgt. Er giebt Sectionsbefunde von drei Thieren, aus denen aber nicht zu ersehen ist, ob die Katzen wirklich an Pest gelitten haben. Aehnlich erzählt Frank[2] nach seinen bis 1820 reichenden Beobachtungen: Alexandriae epidemia mortifera inter feles grassabatur; complures morbum hunc pro indicio pestis proximae habuerunt. Constantinopoli vulgo credunt, maiorem mortalitatem horum animalium esse indicium pestis indubitatum. Er hält dies aber nicht für sicher. Von Ratten und Mäusen berichtet er so wenig etwas wie di Wolmar oder ein anderer Autor seiner und der folgenden Zeit.

VIII.

Wir haben im Vorstehenden die Litteratur, soweit sie die uns beschäftigende Frage angeht, erschöpft.

Erkenntniss der Anschauungen früherer Zeiten erschliesst sich uns aber nicht aus ihrem Schriftwesen allein, sondern auch aus den Schöpfungen ihrer bildenden Künstler. Es ist daher noch kurz zu erörtern, ob wir in den Werken der Maler und Bildhauer früherer Zeiten Belege dafür finden können, dass unsere Vorfahren Kenntniss von der Rolle der Ratten und Mäuse in der Pest gehabt haben. Namentlich den Malern hat die Pest mit ihren dramatisch belebten Scenen einen oft gewählten Vorwurf abgegeben. Wir finden nicht nur Titelbilder, die das Wüthen der Pest

[1] Di Wolmar, *Abhandlung über die Pest.* Berlin 1827. S. 178.
[2] Frank, *De peste aegyptiaca.* Wien 1820. S. 22.



versinnlichen, in alten Pestabhandlungen hier und da, sondern besitzen auch grössere Gemälde, die ihr gewidmet sind, aus früheren Zeiten. Das schöne Werk von Charcot und Richer „Les difformes et les malades dans l'art", Paris 1889 bringt Nachbildungen einer Anzahl von Pestgemälden[1] und liefert von anderen ziemlich eingehende Beschreibungen. Thiere sind auf diesen Bildern gelegentlich dargestellt. So sieht man auf dem Bilde „Il Morbetto" von Rafael neben menschlichen Pestkranken und Leichen zwei todte Schafe und ein Pferdekadaver. Auf Mignard's Gemälde der Pest von Epirus liegt ein todter Hund im Vordergrunde. Aber nur ein einziges Bild kenne ich, das Ratten zeigt. Es stammt von Nicolas Poussin um 1630, und was stellt es dar? Die Pest der Philister, von der wir anfangs gesprochen haben, bei der die Bibel gleichzeitig eine Rattenplage erwähnt! Keine der auf dem Bilde dargestellten fünf Ratten aber weist Zeichen von Erkrankung auf, vielmehr erfreuen sich alle des besten Wohlbefindens, — soviel wenigstens meine, durch den langen Umgang mit Ratten im Laboratorium für das Verhalten der Thiere doch einigermaassen geschärften Augen auf der Abbildung zu sehen vermögen.

IX.

Fassen wir, am Ende unseres Ueberblickes angelangt, seine Ergebnisse in kurzen Worten zusammen. In der ganzen Litteratur fanden wir nur drei Angaben, die zweifellose Kenntniss ihrer Verfasser von der Betheiligung der Nager an Pestepidemieen unter den Menschen beweisen. Sie stammen von Avicenna um das Jahr 1000, von Nicephorus Gregoras aus dem Jahre 1348, von Orraeus aus dem Jahre 1771. Avicenna's Satz haben die späteren Schriftsteller gekannt. Sie haben ihn wiederholt, aber verstümmelt, unter Weglassung des wesentlichsten Theiles seines Inhaltes, ein Beweis dafür, dass sie seine eigentliche Bedeutung nicht mehr verstanden. Eigene Beobachtungen über auffallendes Verhalten der Nager finden wir bei ihnen nicht mehr, so dass es verständlich ist, wie Orraeus 1771 von dem Verschwinden der Ratten und Mäuse in der Pest als von einem vollständigen Novum, das ihm selbst durchaus nicht ohne Weiteres glaublich ist, berichten kann. Die Mittheilung des Nicephorus scheint überhaupt bis in die neueste Zeit keine Beachtung gefunden zu haben.

Nun erhebt sich die Frage, wie mag es gekommen sein, dass man in früheren Zeiten so gut wie gar keine Beobachtungen über die uns jetzt geläufige Rolle der kleinen Nager in der Pest gemacht hat?

[1] Die Abbildungen in den Zeitschriften *La nature*, *Semaine médicale*, *Janus* und bei Proust (a. a. O.) sind diesem Werke entlehnt.



Zwei Möglichkeiten sind da denkbar. Entweder haben unsere Vorfahren die Erscheinungen unter den Ratten und Mäusen einfach übersehen, trotzdem die Thiere an der Pest eben so stark betheiligt waren wie jetzt in Asien. Oder die Ratten und Mäuse haben in den alten Epidemieen auf europäischem Boden eine Betheiligung, wie wir sie in dem jetzigen Seuchenzuge beobachten, nicht gezeigt, so dass unsere Vorfahren gar nicht auf sie aufmerksam werden mussten.

Sich bedingungslos für die eine oder die andere dieser beiden Möglichkeiten zu entscheiden, halte ich nicht für angängig. Die Wahrheit wird auch hier wieder wie so oft in der Mitte liegen.

Hätten die Nager in den alten europäischen Pestepidemieen eine so umfangreiche Betheiligung an der Pest gezeigt wie sie es in der jetzigen Epidemie in Asien thun, so hätten unsere Vorfahren das ganz ohne Frage bemerken müssen. Ihnen weniger Beobachtungsvermögen zuzutrauen als den Eingeborenen in Indien und Afrika, denen das Sterben der Nager vor und in der Pest etwas so ganz Geläufiges ist, das ist doch wohl durch nichts gerechtfertigt. Andererseits liegt kein genügender Grund vor, anzunehmen, die Pest habe sich früher ganz anders verhalten als jetzt und Ratten und Mäuse in den alten europäischen Epidemieen überhaupt nicht ergriffen.

Wohl aber ist der Nachrichtenmangel dann verständlich, wenn die Mortalität der Ratten und Mäuse innerhalb beschränkter Grenzen blieb und höchstens gelegentlich einmal einen stärkeren Umfang annahm. Dass dann die Erscheinungen unter den Nagern übersehen oder mit der Pest nicht in Zusammenhang gebracht wurden, ist wohl zu verstehen. Ganz genau so würde es uns vielleicht noch heute ergehen, wenn wir nicht durch die Beobachtungen in Asien auf die Nager hingewiesen worden wären. Wer wollte glauben, dass in der vorjährigen Epidemie zu Oporto Jemand von den Ratten, die nur in so geringer Zahl zu Grunde gingen, Notiz genommen hätte, wenn nicht nach den Erfahrungen in Indien und China jetzt bei jeder Pestepidemie die Aufmerksamkeit sogleich auf sie sich richtete? Wenn auch unsere Vorfahren durch den alten Lehrsatz von der Vermehrung und der Flucht der Nager vor der Pest eigentlich zur Aufmerksamkeit auf die Thiere hätten verpflichtet sein müssen, so darf man doch nicht vergessen, dass das Interesse der Beobachter sich, wie es ganz natürlich ist, mehr auf die Erscheinungen der Krankheit unter den Menschen und den Nutzen bringenden Hausthieren als auf die ungebetenen Hausgäste aus der Klasse der Nagethiere richtete, so dass eine wenig umfangreiche Betheiligung dieser Thiere an der Pest unbeachtet bleiben konnte.

Wir müssen also annehmen, dass das Schweigen unserer Vorfahren über Beobachtungen unter den Nagern sich dadurch erklärt, dass in den alten europäischen Pestepidemieen die Ratten und Mäuse nicht annähernd in dem Umfange und der Häufigkeit an der Pest betheiligt gewesen sind, wie in der jetzigen Epidemie in Asien, so dass die Erscheinungen unter den Thieren gar nicht besonders ins Auge fielen. Dass dem so gewesen ist, dafür spricht auch der Umstand, dass in den Beschreibungen der alten Epidemieen, wenn von besonderer Disposition bestimmter Berufszweige für die Pest die Rede ist, nur ausnahmsweise die Leute als besonders stark an den Erkrankungen betheiligt genannt werden, die durch ihre Thätigkeit mit Ratten und Mäusen in nähere Berührung kommen, wie Bäcker, Müller, Kornspeicherbesitzer und -arbeiter, während jetzt die Angehörigen dieser Berufsfächer vielfach als besonders gefährdet gelten. Zwar erzählt Antrechaus[1] aus der Pest zu Toulon 1721, dass Bäcker zahlreich gestorben seien, zwar berichtet auch Russel[2] ähnliches aus den Beyruther Pesten des 18. Jahrhunderts und Frank[3] aus den ägyptischen Epidemieen im Anfange des 19. Jahrhunderts das Gleiche von den Müllern; indessen bilden derartige Angaben eben doch nur Ausnahmen neben den vielen, die andere, von Nagern unbehelligte Berufe als besonders pestgefährdet nennen. — Dass man früher die Baumwolle in hervorragendem Maasse als Ueberträger der Pest fürchtete, muss durchaus nicht dadurch erklärt werden, dass diese Waare besonders oft durch die so gerne in ihr hausenden und von den Saamen sich nährenden Ratten und Mäusen inficirt worden sei. Man braucht sich nur daran zu erinnern, dass in früheren Jahrhunderten neben der Pest die Baumwolle den Hauptimportartikel vom Oriente nach Europa bildete, um zu verstehen, dass man besondere Sorge davor hatte, mit dem gewünschten Gute könne auch das unerwünschte aus den stets von der Pest verseuchten Osten verfrachtet und übermittelt werden. — Ebenso ist nicht ohne Weiteres anzunehmen, dass die ziemlich oft berichteten, in späteren Zeiten allerdings häufig bestrittenen Pestinfectionen der Katzen dadurch entstanden seien, dass diese Thiere, die nach den Feststellungen der österreichischen Pestkommission als pestempfänglich zu bezeichnen sind, pestkranke Ratten und Mäuse verzehrt haben. Bei dem leichtsinnigen Umgehen mit den infectiösen Abgängen der Pestkranken, das früher vielfach im Gebrauche war, werden die Katzen auch auf andere Weise als durch die Jagd nach den kleinen

[1] Hrn. v. Antrechaus' *Merkwürd. Nachrichten von der Pest in Toulon 1721.* Uebersetzt von Knigge. Hamburg 1794.

[2] Russel, *Abhandlung über die Pest.* Deutsch. Leipzig 1792. Th. II. S. 158.

[3] Vgl. Frank, a. a. O.



Nagern sich haben inficiren können. — Uebrigens gewinnt man auch beim Studium der Verbreitung alter Pestepidemieen nirgends den Eindruck, dass Ratten und Mäuse für die Verschleppung der Seuche von Wichtigkeit gewesen sind; überall finden sich andere Ursachen der Verbreitung reichlich und überreichlich vor.

Wenn man fragt, weshalb früher in Europa die Nager eine so viel geringere Bedeutung für die Pestverbreitung gehabt haben, als jetzt in Indien und China, so könnte man den Grund darin vermuthen, dass vielleicht die Hausratte (mus rattus), die bis zum Ende der grossen europäischen Pestepidemieen die einzige Rattenart in Europa war, weniger pestempfänglich war, als die heute bei uns überwiegende Wanderratte (mus decumanus), die erst seit etwa 1730 bei uns heimisch ist und die derselben Art angehört, die jetzt in China und Indien so sehr unter der Pest leidet. Läge der Grund in diesen Verhältnissen, so müssten aber wenigstens seit 1730 die Ratten in den Pestepidemieen Süd- und Osteuropas stärker hervorgetreten sein, was nicht der Fall ist. Auch ist es wohl kaum gerechtfertigt, anzunehmen, dass die Hausratte geringere Pestempfänglichkeit besitzt, als die ihr so nahe verwandte Wanderratte; experimentell ist die Frage allerdings noch nicht gelöst, da meines Wissens bisher Niemand an Hausratten mit Pest experimentirt hat.[1]

Den wesentlichen Grund für das Zurücktreten der Nager in den alten europäischen Epidemieen wird man meines Erachtens in dem Umstande suchen müssen, dass schon damals in Europa die allgemeinen sanitären Verhältnisse und die Lebensbedingungen des Einzelnen bessere waren, als sie jetzt in Asien sind, dass die Zahl der Ratten und Mäuse kleiner, die Reinlichkeit grösser war, die Gelegenheiten zur Infection der Thiere daher im Ganzen seltener und die Möglichkeiten der Uebertragung vom Nagethier auf den Menschen in Folge des weniger intimen Zusammenlebens von Mensch und Thier weniger häufig waren, als unter asiatischen und afrikanischen Verhältnissen.

Bei dem Fortschritt der sanitären Zustände in Europa seit den letzten grossen Pestepidemieen des Abendlandes werden die Unterschiede zwischen asiatischen und europäischen Verhältnissen bei dem Auftreten der Pest in der Zukunft noch viel stärker ins Gewicht fallen als sie es in der Vergangenheit gethan haben. Es kann kein Zweifel obwalten, dass bei Einschleppung der Seuche nach Europa niemals die Ratten und Mäuse von solcher Bedeutung für die Verbreitung einer Epidemie sein und werden können,

[1] Sata, *Archiv für Hygiene*, Bd. XXXVII, S. 143, giebt zwar an, Hausratten mit Pest inficirt zu haben, doch scheint nach einer mir von Hrn. Prof. Schottelius, in dessen Laboratorium Sata arbeitete, freundlichst gemachten Mittheilung ein Irrthum Sata's über die Bedeutung des Wortes Hausratte vorzuliegen.



wie sie es in Asien sind. Die Auffassung, dass die Pest eigentlich eine Krankheit der Ratten und gewisser anderer Nager sei und nur in zweiter Linie auf den Menschen übergreife, geht entschieden zu weit. Die Pest ist eine Krankheit des Menschen und nicht blos eine auf den Menschen übertragbare Thierkrankheit; der Mensch ist in der Regel der gefährlichste Verbreiter der Seuche, nicht die Ratte. Die, wie schon ein flüchtiger Blick in die neueste Pestlitteratur zu zeigen vermag, vielfach verbreitete Neigung, über dem Interesse an der jüngsten Errungenschaft, der Erkenntniss von der Fähigkeit der Nager zur Verbreitung der Pest, andere Lehren der Pestepidemiologie zu vernachlässigen, ist sehr bedenklich. Bereits haben Carl Fraenkel[1] aus allgemeinen Erwägungen, Bitter und Clemow nach Erfahrungen in Indien und Arabien sich veranlasst gesehen, ihre Stimme zu erheben, um vor einer Ueberschätzung der Bedeutung der Nager für die Verbreitung der Pest, zumal in europäischen Verhältnissen zu warnen.[2] Die beiden Pestepidemieen auf europäischem Boden, die uns die letzten Jahre gebracht haben, sprechen in gleichem Sinne: In Oporto haben die Ratten kaum nachweislich, in Glasgow[3] überhaupt nicht zur Verbreitung der Pest beigetragen. Auch unsere geschichtlichen Betrachtungen, die uns zeigen, dass die denkbar schwersten Pestepidemieen früher in Europa gehaust haben ohne wesentliche Betheiligung von Seiten der Ratten und Mäuse, mahnen uns, die Nager nicht für das ausschlaggebende Agens in der Pestepidemiologie anzusehen. Auch sie warnen uns vor der so nahe liegenden Gefahr, dass wir über dem eifrigen Streben, die Ratten und Mäuse zu vernichten, andere wichtige Aufgaben der Pestprophylaxe zu kurz kommen lassen. In diesem Sinne genutzt werden die vorstehenden Erörterungen auch einen gewissen praktischen Werth beanspruchen dürfen und nicht nur des Historikers Interesse zu erwecken vermögen.

---

[1] C. Fraenkel, vgl. *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. S. 1592; Bitter, *diese Zeitschrift.* Bd. XXX. S. 479 ff.; Clemow, a. a. O. Vgl. S. 102, Anm. 2.

[2] Lehrreich sind auch die Angaben von Gotschlich über die Pest in Alexandrien 1899. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXV. S. 195.

[3] Cantlie, *British med. Journal.* Nr. 2078. p. 1229.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Zürich.]

Beitrag zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen und anderen säurefesten Bacillen in der Marktbutter.

Von

Maria Tobler,
prakt. Aerztin, Zürich.

(Hierzu Taf. I u. II.)

Die erste Veranlassung zu den hier niedergelegten Untersuchungen gab eine im Jahre 1894 aus dem hiesigen Hygiene-Institute hervorgegangene Arbeit: Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Marktbutter (1). Der Verfasser, Prof. Dr. O. Roth, wies an einer Reihe von 20 verschiedenen Butterproben nach, dass 10 Procent derselben mit virulenten Tuberkelbacillen inficirt waren.

Als nun im Jahre 1897, zuerst von Petri, aus den erkrankten Organen von mit Butter geimpften Meerschweinchen Bacillen isolirt wurden, die säurefest sind, sich aber in Cultur und Pathogenität von echten Tuberkelbacillen unterscheiden; als dann von verschiedener Seite jene Befunde bestätigt und neue „säurefeste“ Bacillen beschrieben wurden, da regte sich auch im hiesigen Institute die Frage, ob nicht vielleicht jene, im Jahre 1894 noch unbekannten tuberkelbacillenähnlichen Mikroorganismen dazu beigetragen hätten, den Procentsatz der inficirten Butterproben als einen relativ so hohen erscheinen zu machen. Da diese Frage in einem Lande, in dem die Molkereiproducte in wirthschaftlicher Hinsicht eine so grosse Rolle spielen, wie in der Schweiz, von besonderer Wichtigkeit ist, untersuchte ich, angeregt von Docenten Dr. Silberschmidt und im Auftrag von Prof. O. Wyss, eine Anzahl von Proben unserer käuflichen Marktbutter, um festzustellen, ob darin virulente Tuberkelbacillen oder andere säurefeste Bacillen vorkommen.

Dieser ursprüngliche Arbeitsplan hat sich im Laufe derUntersuchungen dahin erweitert, dass die verschiedenen aus den Organen erkrankter Thiere gewonnenen Reinculturen säurefester Bacillen näher untersucht, und mit einzelnen derselben weitere Thierversuche angestellt wurden.

Die Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Butter hat schon seit längerer Zeit verschiedene Hygieniker beschäftigt; so entnehme ich einer Arbeit von Rabinowitsch (2) folgende statistische Angaben:

1890 fand Brusaferro in Turin von 9 Butterproben eine mit Tuberkelbacillen inficirt;
1894 Roth in Zürich 2 von 20 Proben;
1896 Schuchardt in Marburg keine von 42 Proben;
1897 Obermüller in Berlin alle von 14 Proben;
1897 Gröning in Hamburg 8 von 17 Proben.

Ferner veröffentlichte Morgenroth (3) in Berlin 1899 Untersuchungen über Margarinebutter und fand in einer ersten Serie von 10 Proben 8, in einer zweiten Serie von 10 Proben 1 mit virulenten Tuberkelbacillen inficirt.

Nach der Entdeckung der Petri'schen Stäbchen wurden die Butteruntersuchungen wieder aufgenommen und ich fand folgende Resultate mitgetheilt:

Rabinowitsch (2) in Berlin fand 1897 in 80 Proben nie echte Tuberkelbacillen, in 28 Procent aber säurefeste tuberculoseähnliche.

Petri (4) in Berlin fand 1898 unter 102 Butterproben mit echten Tuberkelbacillen allein inficirt 17, mit tuberculoseähnlichen 38, mit Tuberkelbacillen und tuberkelbacillenähnlichen 16 Proben.

Ascher (5) in Königsberg fand in 27 Proben 2 Mal echte Tuberkelbacillen, nie tuberkelbacillenähnliche.

Hermann Morgenroth (6) in Berlin unter 10 Proben 3 Mal echte, 1 Mal tuberculoseähnliche säurefeste Bacillen.

Korn (7) in Freiburg unter 20 Proben 4 mit echten, 1 mit säurefesten tuberculoseähnlichen Bacillen inficirte.

Die Angaben über die Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen in der Butter variiren noch mehr. So fand Heim künstlich mit Tuberkelbacillen inficirte Butter bis nach 30 Tagen infectiös, Gasperini noch nach 102 Tagen, Laser nach 12 Tagen.

Auch zu meinen Untersuchungen wurde ausschliesslich der Thierversuch verwendet, da der mikroskopische Nachweis, für den Roth eine Methode angiebt (8), zeitraubend und nicht sicher ist.



Tabellarische

Butterprobe Nr.	Thier-Nr.	Injicirtes Material	Injectionsstelle	Gestorben nach Tagen	Getödtet nach Tagen	Gewicht bei der Injection	Gewicht beim Tode
I. 500 grm Gemisch von Proben aus 6 verschiedenen Bezugsquellen	1	fetthaltiger Bodensatz, 5 ccm	intraperit.	1	—	315	—
	2	„ „ „	„	1	—	325	—
	3	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	„	—	60	330	550
	4	„ „ „	subcutan	—	60	325	520
II. 300 grm aus einer grossen Molkerei	5	klares Fett, 5 ccm	intraperit.	—	62	335	425
	6	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	—	62	305	440
	7	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	—	63	355	450
	8	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	—	63	315	490
III. 300 grm aus einer grossen Molkerei	9	klares Fett, 4 ccm	intraperit.	—	66	280	440
	10	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	16	—	275	225
	11	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	„	—	66	305	440
	12	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	subcutan	—	70	275	435
IV. 150 grm aus einem kleinen Butterladen der Stadt	13	klares Fett, 5 ccm	intraperit.	—	68	322	465
	14	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	2	—	305	—
	15	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	„	—	57	320	375
	16	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	subcutan	4	—	322	—
V. 100 grm von einem grösseren Geschäft	17	klares Fett, 5 ccm	intraperit.	—	65	370	545
	18	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	„	2	—	385	—
	19	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	—	68	250	405
VI. 200 grm aus einem grösseren Buttergeschäft	20	klares Fett, 5 ccm	intraperit.	—	65	330	525
	21	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	—	67	305	435
	22	„ „ 3 „	subcutan	4	—	265	210



Uebersicht.

Pathologisch-anatomischer Befund	Mikroskopisch-bakteriologischer Befund	Culturen
Peritonitis fibrinosa acuta	keine säurefesten Bacillen	—
desgl.	„ „ „	—
normal	—	—
normal	—	—
normal	—	—
Reste des Fettes in Klümpchen den Därmen aufliegend normal	—	—
tuberculoseähnliche Erkrankung von Bauchfelldrüsen	säurefeste Bacillen	Reincultur von säurefesten Bacillen
normal	—	—
normal. Reste des Fettes auf Milz und Därmen	—	—
mehrere abgesackte peritoneale Abscesse. — Mit dem Eiter geimpftes Meerschw., nach 5 Wochen getödt., ist normal (Nr. 46)	im Eiter Kokken in kleinen Haufen	Staphylococcus albus
normal	—	—
Abscess an der Injectionsstelle. — Bei der Section normal	im Eiter säurefeste Bacillen und Kokken	Mischcultur von säurefesten Bacillen und Kokken
normal. Reste des Fettes in Klümpchen auf den Därmen	—	—
Peritonitis fibrinosa et exsudativa	keine säurefesten Bacillen	—
Tuberculöse Erkrankung der Bauchhöhle	säurefeste Bacillen	steril. — Durch Ueberimpfung echte Tuberculose erzeugt. (S. Thier Nr. 44.)
Abscess der Bauchdecken	Kokken im Herzblut	—
normal. Reste des Fettes in Knötchen auf dem Netz	—	—
Peritonitis fibrinosa	keine säurefesten Bacillen	—
Abscess an der Injectionsstelle. — Bei der Section normal	„ „ „	—
normal. Reste des Fettes in Knötchen auf den Därmen liegend	—	—
normal	—	—
Grosser Abscess der Bauchdecken	keine säurefesten Bacillen	—



Tabellarische

Butterprobe Nr.	Thier-Nr.	Injicirtes Material	Injections-stelle	Gestorben nach Tagen	Getödtet nach Tagen	Gewicht bei der Injection	Gewicht beim Tode
VII. 300 grm aus einem Spezereigeschäft	23	klares Fett, 5 ccm	intraperit.	—	63	302	435
	24	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	„	1	—	300	—
	25	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	3	—	270	—
VIII. Gemisch von je 100 grm aus 3 verschiedenen Spezereigeschäften	26	klares Fett, 3 ccm	intraperit.	—	55	240	350
	27	fetthaltiger Bodensatz, 2 ccm	„	—	55	315	410
	28	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	—	55	240	370
IX. 150 grm aus einem Buttergeschäft	29	klares Fett, 4 ccm	intraperit.	—	58	275	390
	30	fetthaltiger Bodensatz	„	4	—	240	—
	31	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	3	—	238	—
X. 200 grm aus einem Buttergeschäft	32	klares Fett, 4 ccm	intraperit.	—	51	265	405
	33	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	„	4	—	240	—
	34	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	subcutan	3	—	240	—
XI. 150 grm aus einem Buttergeschäft	35	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	intraperit.	—	39	270	355
	36	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	„	—	51	265	305
	37	„ „ „	subcutan	—	51	260	415
XII. 125 grm aus einer grossen Molkerei	38	fettfreier Bodensatz v. 5 grm Butter	intraperit.	—	50	245	435
	39	fetthaltiger Bodensatz, 3 ccm	„	—	50	245	305
	40	„ „ 2 „	subcutan	—	50	245	400



Uebersicht.

Pathologisch-anatomischer Befund	Mikroskopisch-bakteriologischer Befund	Culturen
normal. Reste des Fettes in Klümpchen den Drüsen aufliegend	—	—
Peritonitis sero-fibrinosa acuta	keine säurefesten Bacillen	—
blutig-sersöse Infiltration der Bauchdecken	Kokken u. Stäbchen im Herzblut, keine säurefesten Bac.	—
Reste des Fettes in feinen Belägen auf den Därmen	—	—
Vergrösserte Drüsen. Verwachsungen der Milz	spärliche säurefeste Bacillen in den Drüsen	steril geblieben.
Abscess an der Injectionsstelle. Bei der Section grosse Inguinaldrüsen. Erkrankung der Decidua	spärliche säurefeste Bacillen in Inguinaldrüsen u. Decidua	aus der Decidua nur Kokken. Andere Culturen steril.
normal	—	—
Peritonitis fibrinosa	keine säurefesten Bacillen	—
Abscess der Bauchdecken	„ „ „	—
tuberculoseähnliche Erkrankung von Bauchfell und Drüsen	keine Bacillen	in einer Cultur Kokken (Verunreinigung?), die anderen steril. Ueberimpfung auf ein weiteres Thier giebt negatives Resultat.
Peritonitis fibrinosa	keine säurefesten Bacillen	—
Abscess der Bauchdecken	„ „ „	—
Tuberculose der Bauchhöhle	säurefeste Bacillen	echte Tuberkelbacillen in Reincultur. Durch Ueberimpfung echte Tuberculose erzeugt (s. Thier Nr. 46).
tuberculoseähnliche Erkrankung der Bauch- und Brusthöhle	säurefeste Bacillen	Reincultur v. schwachsäurefesten Bacillen.
normal	—	—
normal	—	—
tuberculoseähnliche Erkrankung der Bauchhöhle	säurefeste Bacillen	Reincultur von säurefesten Bacillen.
Abscess der Injectionsstelle. — Bei der Section 1 Knötchen an der Injectionsstelle Grosse Inguinaldrüsen	keine Bacillen	aus dem Knötchen Reincultur v. schwach säurefesten Bacillen



Bei meinen Versuchen arbeitete ich nach folgender Untersuchungsmethode.

Die Butter wurde vom Abwarte des Instituts in verschiedenen Molkereien und anderen Läden der Stadt gekauft. Es kamen im Ganzen 12 Proben zur Untersuchung, von denselben stammen nur Nr. 3 und 12 aus demselben Geschäfte. Mit jeder Probe wurden je nach Vorrath 3 bis 4 Meerschweinchen injicirt, davon stets eines subcutan, die anderen intraperitoneal. Zur Verwendung kamen von jeder Probe 100 bis 500 grm Butter, welche im Brütschrank bei 37° verflüssigt wurden; die geschmolzene Masse wurde dann tüchtig durchmischt und stehen gelassen bis sich das klare Fett an der Oberfläche angesammelt hatte; von diesen wurden 4 bis 5 ccm zur Injection eines Thieres verwendet. Dann wurde das Fett zum grössten Theile abgegossen, der Rest mit dem Bodensatz vermischt und als fetthaltiger Bodensatz zu 2 bis 5 ccm weiteren Thieren injicirt.

Schliesslich wurde nach einer von Roth (8) angegebenen Methode durch Ausschütteln von je 5 grm Butter mit sterilem Wasser und nachfolgender Centrifugirung ein vollkommen fettfreier Bodensatz hergestellt und zur Injection verwendet.

Eine Uebersicht der Versuche und ihrer Resultate wird in vorstehender Tabelle gegeben.

Es sollen nun die genaueren Sectionsprotocolle der an Tuberculose oder mit tuberculoseähnlichen Veränderungen erkrankten Thiere, sowie die Resultate der histologischen Untersuchungen und der Ueberimpfung von Organstückchen kranker Thiere auf Gesunde mitgetheilt werden.

Von den Thieren, die makroskopische Veränderungen aufwiesen, wurden eines oder mehrere Organe in Formalin gehärtet, nach der üblichen Behandlung in Paraffin eingebettet und in möglichst dünne Schnitte zerlegt. Zur Erkennung der histologischen Verhältnisse wurden die Präparate mit Hämalaun-Eosin gefärbt; specielle Bakterienfärbungen kamen stets 2 in Anwendung:

1. Erwärmung mit Carbolfuchsinlösung, $^1/_2$ Stunde Entfärbung mit 5 procentigem Salzsäurealkohol, Nachfärbung mit Methylenblau.

2. Vorfärbung mit Eosin, darauf Gram'sche Färbung,

letztere Methode, damit eventuell in Schnitten nicht mehr säurefeste Bacillen doch der Beobachtung nicht entgehen möchten.



Von Butterprobe Nr. II.

Meerschweinchen Nr. 7. Hatte während der dritten und vierten Woche nach der Injection 80 grm Gewichtsabnahme gezeigt, nachher wieder normale Zunahme. Sectionsbefund: Musculatur blassbraun; Inguinaldrüsen etwas vergrössert; Netz stark verdickt, mit Einlagerungen von zahlreichen, ca. linsengrossen Knötchen; ebensolche in der Serosa des Magens und im Zwerchfell; — Milz, Leber und Nieren mit weisslichen Auflagerungen bedeckt und theilweise mit der Umgebung verwachsen, in der Tiefe dieser Verwachsungen mehrere linsen- bis bohnengrosse Abscesse mit weisslichem Eiter. Retroperitoneale und mesenteriale Lymphdrüsen deutlich vergrössert, auf der Schnittfläche zum Theil hart, andere breiig erweicht. Retrosternale Drüsen vergrössert. Die übrigen Organe ohne Veränderungen. Auf Ausstrichpräparaten des Eiters, der verschiedenen Knötchen und Drüsen (auch der retrosternalen) säurefeste Stäbchen in mittlerer Zahl. Auf einer mit Eiter geimpften Hesse-Agarplatte wuchs nach 24 Stunden eine Reincultur von säurefesten Bacillen, die auf Glycerinagar übergeimpft, sich rasch und üppig entwickelte.

Schnittpräparate des Gewebes, welches die Verwachsungen zwischen den Abdominalorganen bildete, ergeben ein lockeres, kern- und gefässreiches Bindegewebe, welches rundliche Zellhaufen umgiebt; diese sind zusammengesetzt aus ein- und mehrkernigen Leukocyten, epitheloiden Zellen und spärlichen eosinophilen Blutzellen. An vielen Stellen schiebt das Bindegewebe seine grossen, hellen Zellkerne zwischen die dunkelgefärbten Leukocyten hinein; andere Zellhaufen sind schon fast ganz bindegewebig organisirt. Säurefeste Bacillen konnten nur ganz vereinzelt in den Leukocytenhaufen nachgewiesen werden. Aus den Knötchen und den Drüsen dieses Thieres wurde mit steriler Bouillon eine Aufschwemmung bereitet und von derselben 2 weiteren Meerschweinchen je 2 ccm intraperitoneal injicirt. (Meerschweinchen Nr. 41 und 42.)

Meerschweinchen Nr. 41. Gewichtszunahme nach der Injection wie bei gesunden Thieren. Wurde nach 4 Wochen getödtet. Pathologisch-anatomischer Befund: Inguinaldrüsen leicht vergrössert; Netz bindegewebig verdickt mit Einlagerung von mehreren hanfkorngrossen, auf der Schnittfläche harten Knötchen, mesenteriale Drüsen vergrössert. Sonst keine Veränderungen. Säurefeste Bacillen konnten in Ausstrichpräparaten der Netzknötchen nachgewiesen und in üppig wachsender Reincultur daraus gezüchtet werden. — Histologischer Befund: ähnlich dem beim Meerschweinchen 7. Lockeres Bindegewebe umgiebt Zellhaufen, die aus Leukocyten und epitheloiden Zellen bestehen; vielfach Zerfallserscheinungen an den Kernen, im Centrum der Zellhaufen häufig eine amorphe, kernlose Substanz. Bacillen nach der Gram'schen Methode einzeln und in kleinen Gruppen nachweisbar; in Schnitten, die mit Säurealkohol entfärbt waren, nicht mit Sicherheit zu differenziren.

Meerschweinchen Nr. 42 zeigte sowohl makroskopisch wie in Schnitten dieselben Veränderungen wie Thier 41. Nur konnte aus den geimpften Netzknötchen keine Cultur gewonnen werden.



Von Butterprobe Nr. III.

Meerschweinchen Nr. 12. Am vierten Tage nach der subcutanen Injection entsteht in der Umgebung der Injectionsstelle eine Röthung und Infiltration, die sich bald zu einem wallnussgrossen Abscess entwickelt, der perforirt und einen weissen dicken Eiter entleert. Darin finden sich säurefeste Bacillen neben vielen Kokken. Während weiteren 8 Tagen schreitet die Infiltration und Eiterung fort, so dass die Bauchdecken fast ganz in eine granulirende Fläche umgewandelt sind. 4 Wochen nach der Impfung ist die Heilung vollkommen, die Granulationsfläche überhäutet.

Bei der Section, 70 Tage nach der Injection, findet sich zwischen Haut- und Bauchmuskeln noch eine 5 pfenniggrosse geschwürige Stelle mit eitrigem Belag, in welchem säurefeste Bacillen nachgewiesen und in Reincultur gezüchtet werden können. — Im Uebrigen normale Verhältnisse. — Unterdessen war auch mit vieler Mühe aus der ursprünglichen Mischcultur des Abscesses eine Reincultur derselben säurefesten Bacillen gewonnen worden.

Von Butterprobe Nr. IV.

Meerschweinchen Nr. 15. Sectionsprotocoll: Starke Abmagerung, harte, stark vergrösserte Inguinaldrüsen; auf Peritoneum parietale und viscerale graugelbe, hanfkorngrosse Knötchen in mittlerer Zahl. Im Netz mehrere bis bohnengrosse graugelbe Knötchen, auf der Schnittfläche theils hart, theils verkäst. Milz und Leber nicht vergrössert; enthalten spärliche Knötchen. Retrosternale Drüsen stark vergrössert. Lungen frei.

In Ausstrichpräparaten säurefeste Bacillen in spärlicher Zahl. Culturen bisher steril.

Auf Schnittpräparaten bestehen die Knötchen aus einem kernreichen Bindegewebe, welches Zellhaufen umschliesst, die im Centrum vielfach deutliche Verkäsung zeigen. Keine Riesenzellen. In den käsigen Massen vereinzelte, gut säurefeste Bacillen. Die Knötchen der Milz zeigen ähnlichen Bau und Bacillenbefund. Diejenigen der Leber sind zum Theil bindegewebig organisirt, ohne Verkäsung und ohne Bacillen.

Aus den Drüsen dieses Thieres wird mit steriler Bouillon eine Aufschwemmung gemacht und davon 2 Meerschweinchen (Nr. 43 und 44) je 2 ccm intraperitoneal injicirt.

Meerschweinchen Nr. 43 wird nach 10 Tagen getödtet und zeigte sich vollkommen normal.

Meerschweinchen Nr. 44 wird nach 49 Tagen getödtet. Hat während dieser Zeit nur 10 grm zugenommen. Sieht sehr krank aus. Pathologisch-anatomischer Befund: Typische Tuberculose der Bauch- und Brusthöhle. Inguinaldrüsen haselnussgross, auf der Schnittfläche mit verkästen Herden. Netz in eine dicke knollige, aus zahlreichen Knötchen bestehende Masse umgewandelt. Auf dem Peritoneum mehrere graugelbe Knötchen theilweise verkäst. Leber und Milz stark vergrössert, von zackigen graulichen Herden und Knötchen ganz durchsetzt. Retroperitoneale, mesenteriale und retrosternale Drüsen stark vergrössert. In der Lunge zahlreiche graue Knötchen.



Auf sämmtlichen Ausstrichpräparaten finden sich säurefeste Bacillen in reichlicher Zahl.

Culturen: bisher steril.

Schnittpräparate werden in Anbetracht des beweisenden makroskopischen Befundes nicht gemacht.

Von Butterprobe Nr. VIII.

Meerschweinchen Nr. 27. Zeigte während des Lebens keine Krankheitserscheinungen. Bei der Section, Inguinaldrüsen etwas vergrössert; auf Ausstrichpräparaten derselben ganz spärliche säurefeste Bacillen. Bindegewebige Verwachsungen zwischen Netz und Milz; darin spärliche säurefeste Bacillen. Ebenso spärliche in den vergrösserten mesenterialen Drüsen. Sonst nirgends makroskopische Veränderungen. Die aus den Drüsen angelegten Culturen blieben steril.

Meerschweinchen Nr. 28. Das mit dem fettfreien Bodensatz subcutan injicirte Thier zeigte am vierten Tage einen kleinen Abscess an der Injectionsstelle, der während der Nacht perforirte und eintrocknete, so dass kein Material zur Untersuchung entnommen werden konnte. Bei der Section, nach 54 Tagen, sind die Inguinaldrüsen leicht vergrössert und zeigen auf Ausstrichpräparaten ganz spärliche säurefeste Bacillen. An der Stelle des früheren Abscesses ein linsengrosses grauröthliches Knötchen, das auch vereinzelte säurefeste Bacillen enthält. Organe der Bauchhöhle normal. Das eine Uterushorn ist gravide, enthält einen beinahe reifen Fötus mit normaler Placenta; daneben eine zweite Placenta, ohne Fötus, mit gelblichgrauem, schmierigem Belag. Auf mehreren Ausstrichpräparaten dieses Belages ganz spärliche säurefeste Bacillen.

In einer aus der Placenta angelegten Cultur wuchsen Kokken (Verunreinigung?). Die übrigen Culturen, auch die aus den Inguinaldrüsen, blieben steril.

In Schnitten durch die Placenta fand ich da und dort nekrotische Stellen, in welchen die Kerne sich schlecht färbten und Zerfallserscheinungen zeigten. Keine Bacillen, auch nicht mit der Gram'schen Methode. Es wurde aber nicht die ganze Placenta verarbeitet.

Von Butterprobe Nr. X.

Meerschweinchen Nr. 32. Gewichtszunahme wie bei gesunden Thieren. Pathologisch-anatomischer Befund: Inguinaldrüsen etwas vergrössert; im Netz mehrere linsen- bis bohnengrosse Knötchen, einzelne davon auf der Schnittfläche breiig erweicht. Milz mit linker Niere verwachsen; in diesem Gewebe ein bohnengrosses, central erweichtes Knötchen. Mesenteriale und retrosternale Drüsen etwas vergrössert. Auf Ausstrichpräparaten konnten Bacillen nicht nachgewiesen werden. In einem der geimpften Serumröhrchen wuchsen Staphylokokken (Verunreinigung?), die übrigen blieben steril.



Auf Schnittpräparaten bestehen die Knötchen aus Bindegewebe, das rundliche Räume umgiebt, deren Inhalt ausgefallen ist; die Wandung ist ausgekleidet von einem Kranz von Leukocyten. Kleinere Leukocytenhaufen auch im Bindegewebe zerstreut. Bacillen nirgends nachzuweisen.

Von den Knötchen und Drüsen wird eine Aufschwemmung mittels steriler Bouillon gemacht, und einem weiteren Meerschweinchen (Nr. 45) intraperitoneal injicirt. Nach 6 Wochen getödtet erwies sich dasselbe vollkommen normal.

Von Butterprobe Nr. XI.

Meerschweinchen Nr. 35. Starke Abmagerung. Wurde aus äusseren Gründen schon 5 Wochen nach der Injection getödtet. Pathologisch-anatomischer Befund: Inguinaldrüsen bohnengross, auf der Schnittfläche verkäst. Netz von zahlreichen, linsengrossen, graugelben Knötchen durchsetzt. Milz vergrössert mit zahlreichen kleineren Knötchen. In der Leber einige punktförmige Trübungen. Mesenteriale, retroperitoneale und sternale Drüsen bedeutend vergrössert. Peritoneum und Lungen frei. Auf Ausstrichpräparaten der Milz und der Drüsen säurefeste Bacillen in mittlerer Zahl.

Culturen: Es wurde eine Reincultur von Tuberkelbacillen erhalten.

Histologischer Befund: Die Knötchen bestehen aus Bindegewebe, welches theils Haufen von Leukocyten, theils unscharf begrenzte, verkäste Parthieen einschliesst, in denen nur noch spärliche Leukocyten, mit zerfallenen Kernen und zahlreiche säurefeste Bacillen zu sehen sind.

In den Lymphdrüsen kleine Gruppen von säurefesten Bacillen überall zerstreut; zahlreiche Lymphocytenkerne zeigen Zerfallserscheinungen.

Die Knötchen der Milz zeigen beginnende Verkäsung, spärliche Bacillen. Nirgends Riesenzellen. Mit einer Aufschwemmung der Drüsen wird ein weiteres Meerschweinchen (Nr. 46) intraperitoneal injicirt.

Meerschweinchen Nr. 46. Gewicht bei der Injection 550 ^{grm}. Ging spontan nach 23 Tagen ein und wog nur noch 410 ^{grm}. Die Section ergiebt typische Tuberculose der Bauch- und Brusthöhle. Starke Vergrösserung sämmtlicher Drüsen; Leber und Milz stark vergrössert, mit zahllosen nekrotischen Herden gesprenkelt. Im Netz zahlreiche linsen- bis bohnengrosse, zum Theil verkäste Knötchen. In der Lunge graue miliare Knötchen. Auf allen Ausstrichpräparaten zahlreiche säurefeste Bacillen.

Culturen: Im Laufe von 4 Wochen wuchs eine Reincultur von Tuberkelbacillen.

Schnittpräparate wurden wegen des beweisenden makroskopischen und culturellen Befundes nicht mehr angefertigt.

Meerschweinchen Nr. 36. Starke Abmagerung. Bei der Section, 52 Tage nach der Injection, sind die Inguinaldrüsen nur wenig vergrössert; Peritoneum parietal ohne Veränderungen. Im Netz mehrere bis bohnengrosse Knötchen. Milz zeigt fibrinöse Auflagerungen und ist mit der Umgebung durch knötchenhaltiges Bindegewebe verwachsen; ist nicht ver-

grössert, aber mit graugelben Knötchen durchsetzt. Leber nicht vergrössert, von zahlreichen miliaren Knötchen durchsetzt. Mesenteriale und retroperitoneale Drüsen stark vergrössert, auf der Schnittfläche zum Theil breiig erweicht. In beiden Lungen zahlreiche miliare Knötchen. Sternale Drüsen vergrössert. Auf allen Ausstrichpräparaten säurefeste Bacillen in mittlerer Zahl. Auf Hesse-Agar nach 24 Stunden, auf Serum und Glycerinagar nach 2 Tagen wuchs eine Reincultur von säurefesten Bacillen, die aber diese Säurefestigkeit sehr rasch einbüssten.

Histologische Veränderungen: In den Schnitten überall zerstreut rundliche Zellcomplexe, die sich vorwiegend im interacinösen Gewebe entwickelt zu haben scheinen, da sie häufig im Centrum eine grössere Arterie neben einer Vene enthalten. Die Zellhaufen bestehen aus Leukocyten und aus Zellen mit grossem hellem ovalem Kern und spärlichen aber typischen Langhans'schen Riesenzellen; hie und da sieht man beginnende bindegewebige Organisation. Nirgends Verkäsung. In den Zellhaufen sowohl nach Gram, wie bei Entfärbung mit Säurealkohol schlanke Bacillen, vorwiegend gekörnte Formen. Knötchen der Milz analog; diejenigen der Lunge enthalten keine Riesenzellen und nur sehr spärliche Bacillen. Umgebende Alveolarwände stark zellig infiltrirt. Ein untersuchtes Netzknötchen erwies sich zum grössten Theil aus zerfallenen Leukocyten zusammengesetzt, dazwischen typische Riesenzellen; säurefeste, sowohl nach Gram färbbare schlanke Stäbchen zahlreich durch das ganze Knötchen zerstreut; sie zeigen häufig körnige Färbung und hie und da kolbige Anschwellungen.

Ein weiterer Thierversuch musste leider wegen Mangels an Thieren unterlassen werden.

Von Butterprobe Nr. XII.

Meerschweinchen Nr. 39. Gewichtszunahme geringer wie bei gesunden Thieren. Pathologisch-anatomischer Befund: Inguinaldrüsen wenig vergrössert, hart. Milz mit der Umgebung durch knötchenhaltiges Bindgewebe verwachsen. Mesenteriale und retroperitoneale Drüsen vergrössert, einzelne central breiig erweicht. Im Zwerchfell 2 bohnengrosse harte Knötchen. Organe der Bauch- und Brusthöhle sonst ohne Veränderungen. Sternale Drüsen vergrössert.

Auf Ausstrichpräparaten der Drüsen und Knötchen säurefeste Bacillen von wechselnder Länge und Dicke. In Culturen wuchsen auf allen Nährböden nach 1 bis 2 Tagen Reinculturen von säurefesten Bacillen.

Eines der Knötchen im Zwerchfell wurde histologisch untersucht und zeigte einen Befund, der demjenigen bei Meerschweinchen Nr. 7 sehr ähnlich ist. Das Knötchen ist aus einer grossen Anzahl von rundlichen Zellhaufen zusammengesetzt, von denen die gegen die Peripherie gelegenen vorwiegend aus Leukocyten und epitheloiden Zellen bestehen, während diejenigen im Centrum des Knötchens bindegewebige Organisation zeigen. Nach Gram gefärbte schlanke Bacillen sind überall zerstreut; in Präparaten, die mit Säurealkohol entfärbt waren, sind die Bacillen vom umgebenden blauen Gewebe schwer differenzirbar; sie sind blassblau gefärbt.



Ich unterlasse es absichtlich, die Resultate dieser Untersuchungen in Prozentzahlen auszudrücken, da einerseits die Anzahl der untersuchten Proben eine zu geringe ist, und da andererseits diejenigen Fälle, in denen der culturelle Beweis fehlt, schwer zu classificiren sind.

Jedenfalls steht fest, dass virulente Tuberkelbacillen in unserer Marktbutter nicht ganz selten vorkommen, indem in 2 von 12 Proben bei je einem Versuchsthier (Nr. 15 und 35) eine tuberculöse Erkrankung verursacht und durch Cultur und neuen Thierversuch als echte Tuberculose erkannt wurde.

Ferner wurden aus den erkrankten Organen von 3 intraperitoneal geimpften Thieren (Nr. 7, 36 und 39) und aus 2 subcutan geimpften Thieren (Nr. 12 und 40) 5 verschiedene, mehr oder weniger säurefeste tuberkelbacillenähnliche Mikroorganismen in Reincultur isolirt.

In einem anderen Falle (Nr. 32) war ein knötchenbildender Krankheitsprocess makroskopisch deutlich, der bakteriologische Befund jedoch vollkommen negativ. In einer anderen Serie zeigten 2 Thiere (Nr. 27 und 28) eine wenig ausgedehnte Erkrankung, mikroskopisch wurden säurefeste Bacillen nachgewiesen, konnten aber nicht in Culturen gezüchtet werden.

Von 12 Proben gaben nur 5 vollkommen negatives Resultat.

Bei der zum Theil sehr dürftigen Beschreibung der bisher isolirten säurefesten Bacillen ist es mir nicht möglich, die von mir gezüchteten 5 Arten ohne Weiteres bei schon benannten unterzubringen. Sie sollen daher morphologisch, culturell und soweit möglich auch hinsichtlich ihrer Pathogenität beschrieben werden und dann unter möglichster Berücksichtigung der Originalangaben der Entdecker gesagt werden, mit welcher Art sie am meisten übereinstimmen, worin eventuell sie davon abweichen.

Es kommen von bisher beschriebenen säurefesten Bacillen in Betracht: die drei von Moeller (9) isolirten: Thimotheepilz, Mistpilz, Graspilz II. der Butterpilz von Petri-Rabinowitsch (2 u. 4), 2 von Korn (10 u. 11) beschriebene säurefeste Bacillen; die von Hermann u. Morgenroth (6), sowie von Grasberger (12) beschriebenen nicht oder nur wenig säurefesten Bacillen.



Bacillus I.

(1. Gezüchtet aus Thier 12.)

Form: Stäbchen von sehr wechselnder Länge (Taf. II, Fig. 1), stets ziemlich viel länger als breit, gerade oder leicht gebogen, häufig mit kolbenartigen Auftreibungen; in älteren Culturen hie und da zu Fäden ausgewachsen mit seltenen Verzweigungen. Doch herrschen stets die kurzen unverzweigten Formen vor. Sehr häufig, besonders in Ausstrichpräparaten aus den erkrankten Organen, sind gekörnte Formen.

Anordnung: Häufig regellos; manchmal parallele Anordnung der Stäbchen sehr deutlich. In allen Culturen, besonders ausgeprägt aber in Bouillonculturen, sind grosse kugelige Bacillenhaufen oder S-artig gewundene Züge und verzweigte Figuren.

Färbbarkeit: Färbt sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben in der Kälte; sehr gut nach Gram, behält auch bei der Entfärbung nach Czaplewski die rothe Farbe bei; in seinem Verhalten gegenüber Säuren zeigt er kaum einen Unterschied von Tuberkelbacillen; er ist auch in älteren Culturen und in Schnitten noch säurefest; nur die fädig ausgewachsenen Formen zeigen Neigung zur Entfärbung. Bei längerer Einwirkung von Alkohol zeigte er sich etwas weniger resistent.

Eigenbewegung: fehlt.

Sporen: nicht beobachtet.

Sauerstoff: nothwendig.

Wachsthum: auf allen üblichen Nährböden, bei 37° makroskopisch deutlich nach 1 bis 3 Tagen; bei Zimmertemperatur nach 6 bis 10 Tagen.

Glycerinagarstrichculturen: am zweiten Tage feines, weisses Wachsthum längs des Impfstriches; nach 4 bis 6 Tagen ist die ganze Oberfläche von einem sattgelben, feuchten, fettglänzenden Belag bewachsen, mit ausgebuchteten Rändern und deutlicher, vorwiegend horizontaler Faltung. Im Laufe von 1 bis 3 Monaten geht der Farbenton in's Orange über, die Faltung wird üppiger; die Cultur bleibt feucht und vom Nährboden gut abhebbar. In seltenen Fällen fehlt die Farbstoffbildung. Die einzelnen Colonieen sind rund, glattrandig, mit dunklerem Centrum und hellerer Randzone. Später bildet sich eine makroskopisch sichtbare, sehr charakteristische innere Zeichnung aus (s. Taf. II, Fig. 1); das Centrum der Colonie ist nabelartig eingezogen, nach aussen ein Wall, dem eine Zone mit regelmässiger radiärer Zeichnung und zu äusserst eine helle homogene Zone folgt. — Die tiefliegenden Colonieen sind nicht charakteristisch.

In Agarstichculturen: üppiger, gelber, gefalteter Belag an der Oberfläche. Im Stichcanal geringes, nach unten abnehmendes feines Wachsthum.

Auf Hesseagar bildet sich rasch ein schleierartiger Belag mit feinen Ausläufern. Das Wachsthum ist nicht üppig; keine deutliche Farbstoffbildung noch Faltung.

In Gelatine ist das Wachsthum langsam und dürftig; in Stichculturen geringes fädiges Wachsthum mit lockigen Auläufern; auf Platten weissgelber, dünner Belag ohne Faltung, in älteren Culturen braungelber Farbenton.

In Bouillon am zweiten Tag ein weissgelber, fadenziehender Bodensatz; an der Oberfläche ein feines Häutchen; Flüssigkeit diffus getrübt. In



älteren Culturen wird der Bodensatz massiger, lässt sich säulenförmig aufdrehen; das Häutchen wird dicker, gefaltet, gelblich, wächst am Rande des Glases empor; Flüssigkeit klar. Kein ausgesprochener Geruch.

In Zuckerbouillon ähnlich, nur noch üppiger.

In Hessebouillon zarter.

Serumculturen zeigen ein gelbes, feuchtes, glattrandiges Wachsthum längs des Striches. Keine weitere Ausbreitung der Fläche nach; keine Faltung.

Milch: Wird nicht coagulirt; auf der Oberfläche bildet sich ein orangegelbes dickes Häutchen.

Auf Kartoffeln: Grauweisser feuchter Belag, der später eine orangegelbe Färbung und geringe Faltung aufweist.

Indolbildung: Deutlich. Keine Gasbildung; keine Verflüssigung der Gelatine; keine Säurebildung.

Resistenzfähigkeit: Verträgt ein 1stündiges Erhitzen auf 60° ohne an Säurefestigkeit einzubüssen. Ein 10 Minuten langes Erhitzen auf 80° tödtet ihn ab.

Pathogenität.

Meerschweinchen Nr. 48. Erhält 1 ccm der Bouillonaufschwemmung von einer 4 Tage alten Agarcultur subcutan. Nach 4 Tagen entwickelt sich ein wallnussgrosser Abscess, der weissen dicken Eiter entleert, in welchem sich die säurefesten Bacillen in grosser Zahl befinden, haufenweise in Leukocyten eingeschlossen. Heilung nach 2 Wochen.

Bei der Section, 5 Wochen nach der Injection, sind die Inguinaldrüsen vergrössert und zeigen auf Ausstrichpräparaten kleine Haufen von säurefesten Bacillen, zum Theil in Lymphocyten eingeschlossen. Sonst normale Verhältnisse.

Meerschweinchen Nr. 49. Erhält 1 ccm derselben Bouillonaufschwemmung wie Nr. 48 intraperitoneal. Gewicht bei der Impfung 235 grm. Nach 5 Wochen getödtet. Gewicht 295 grm. Inguinale und mesenteriale Drüsen etwas vergrössert. Netz leicht verdickt, mit einzelnen stecknadelkopfgrossen grauröthlichen Knötchen. Milz mit Umgebung verwachsen. Leber zeigt an der Oberfläche 2 bis 3 trübe Flecken. Auf Ausstrichpräparaten nirgends Bacillen. Die angelegten Culturen blieben steril.

Meerschweinchen Nr. 50. Erhält 1 ccm derselben Bouillonaufschwemmung wie Thier Nr. 48 + 2 ccm steriler Butter intraperitoneal. Stirbt am 5. Tage. Pathologisch-anatomischer Befund: Inguinale Drüsen vergrössert. In der Bauchhöhle ca. 5 ccm einer trüben dünnen Flüssigkeit. Peritoneum parietale von dichtem, fibrinös-eitrigem Belag bedeckt. Leber und Milz in dichte weissliche Auflagerungen eingehüllt; Därme theilweise verklebt. Mesenteriale und sternale Drüsen vergrössert. Organe selbst ohne Veränderungen. In Ausstrichpräparaten der Beläge zahllose Bacillen, zu grossen Haufen verfilzt oder zu kleineren Häufchen in Leukocyten liegend. Auch in Ausstrichpräparaten der Milz, der mesenterialen und sternalen Drüsen säurefeste Bacillen. Culturen aus dem peritonitischen Exsudat, aus Milz und Herzblut zeigen nach 2 bis 3 Tagen die typische gelbe Reincultur.

In Schnittpräparaten der mesenterialen und sternalen Drüsen können kleine Gruppen von säurefesten Bacillen, regellos durch das Gewebe zerstreut, nachgewiesen werden. Die Beläge auf Leber und Milz bestehen aus lockerem, faserigem Gewebe, welches Hohlräume umspinnt, deren Wandung von eng verfilzten Bacillenhaufen ausgekleidet ist; der Inhalt der Hohlräume ist ausgefallen. Im Parenchym von Leber und Milz sind Bacillen auch in den oberflächlichen Schichten nachweisbar, gegen das Innere zu werden sie seltener und verschwinden ganz. Die Bacillen zeigen überall vorwiegend gekörnte Formen und sind gut säurefest.

Meerschweinchen Nr. 51. Von der Milzcultur aus Thier Nr. 50 wird eine Aufschwemmung mit steriler Bouillon gemacht, dazu das peritoneale Exsudat desselben Thieres gemischt. Davon erhält Thier Nr. 51 2^{ccm} intraperitoneal.

Stirbt am 3. Tag. Section: Inguinaldrüsen klein, in der Bauchhöhle ca. 10^{ccm} einer braunrothen trüben Flüssigkeit. Auf dem Peritoneum feine fibrinöse Beläge. Leber, Milz und Drüsen nicht vergrössert. In den Pleurahöhlen eine gelbliche, etwas trübe Flüssigkeit. Lungen frei. — Mikroskopisch konnten im peritonealen und pleuralen Exsudat Gruppen von säurefesten Bacillen in grosser Zahl nachgewiesen werden; Leukocyten vielfach damit vollgepfropft.

Auf Schnitten einer Drüse, der Leber und der Milz konnten kleine Gruppen von säurefesten Bacillen in spärlicher Zahl nachgewiesen werden. Vorwiegend gekörnte Formen, ohne besondere Anordnung.

Meerschweinchen Nr. 52. Erhält 2^{ccm} derselben Aufschwemmung wie Thier Nr. 51 + 2^{ccm} steriler Butter intraperitoneal. Stirbt am 6. Tag. Section: In der Bauchhöhle eine grosse Menge einer blassrosa gefärbten, etwas trüben Flüssigkeit. Im Uebrigen makroskopischer Befund wie bei Thier Nr. 50, auch in Ausstrichpräparaten dieselben Bilder. Sehr zahlreiche Bacillen in Ausstrichpräparaten der sternalen Drüsen (s. Taf. II, Fig. 6). In Culturen aus Leber, Milz[1], peritonitischem Exsudat und Herzblut wuchs die typische Reincultur.

Histologische Präparate: Das Parenchym der verschiedenen Organe zeigt keine Veränderungen. Säurefeste Bacillen in kleinen Gruppen sind durch das Gewebe der Drüsen, Leber (s. Taf. II, Fig. 5) und Milz zerstreut. Kleine Gruppen von Bacillen auch bis tief in's Innere der Organe hinein. In der Niere sieht man besonders deutlich, wie von der Oberfläche aus lange Bacillenzüge sich zwischen den Harncanälchen bis zur Marksubstanz durchschlängeln. Aehnliche Bilder zeigt die Nebenniere. Die Beläge der Unterleibsdrüsen verhalten sich wie bei Thier Nr. 50.

Meerschweinchen Nr. 53. Erhält 3^{ccm} des peritonealen Exsudates von Thier Nr. 52 intraperitoneal. Wird nach 18 Tagen getödtet, ohne dass es je Krankheitserscheinungen gezeigt hätte. Bei der Section sind die Inguinaldrüsen etwas vergrössert und zeigen auf Ausstrichpräparaten Gruppen von säurefesten Bacillen, die einen frei, die anderen in den Lymphocyten liegend. Sonst keine Veränderungen.

[1] Bei sämmtlichen aus den Organen angelegten Culturen wurde die Oberfläche mit dem Glüheisen verschorft und mittels Pipette aus der Tiefe Material aspirirt.

Kaninchen Nr. 1. 1600 grm. Erhält 3 ccm der Bouillonaufschwemmung einer 3 Tage alten Agarcultur intravenös. Wird nach 1 Woche getödtet. Gewicht 1500 grm.

Section: Makroskopisch keine Veränderungen, nur in der Leber einige lineare graue Trübungen. In Ausstrichpräparaten von Drüsen, Milz und Blut keine Bacillen.

In Culturen aus dem Herzblut und aus der Leber wuchsen nach einigen Tagen säurefeste Bacillen in Reincultur.

Kaninchen Nr. 2. 1850 grm. Erhält von derselben Aufschwemmung wie Meerschweinchen Nr. 51, 4 ccm intraperitoneal. Wird nach 10 Tagen getödtet und wiegt 1900 grm. Section: Inguinale Drüsen vergrössert, hart. Peritoneum parietale und viscerale besetzt von stecknadelkopfgrossen bis bohnengrossen graugelben Knötchen in mittlerer Zahl. Mesenteriale Drüsen fast haselnussgross. Milz makroskopisch ohne Veränderungen. Stecknadelkopfgrosse Knötchen im Lebergewebe, aber nur nahe der Oberfläche. Netz verdickt, mit zahlreichen Knötchen. In der rechten Niere und in der Tunica vaginalis beider Hoden je ein linsengrosses Knötchen. Zwerchfell von zahlreichen gelbgrauen Knötchen durchsetzt. Sternale Drüsen vergrössert.

In Ausstrichpräparaten mehrere Knötchen und in Drüsen (auch der sternalen) finden sich säurefeste Bacillen. Reinculturen von säurefesten Bacillen konnten nach 2 Tagen aus den Knötchen und aus der Milz erhalten werden. Blutcultur blieb steril.

In Schnittpräparaten zeigt die Milz keine histologischen Veränderungen. Säurefeste Bacillen in kleinen, nicht sehr zahlreichen Gruppen durch das Organ zerstreut; vorwiegend gekörnte Formen. Ein grösseres Knötchen, histologisch untersucht, besteht aus einem Gerüst von locker geflochtenem, sehr kern- und gefässreichem Bindegewebe, welches rundliche Hohlräume umgiebt; der Inhalt derselben ist grösstentheils ausgefallen; andere sind ausgefüllt von einem kernlosen, feinmaschigen Netzwerk, welches sich bei der Weigert'schen Methode (Vorfärbung mit Eosin) röthlich färbt, nach van Gieson roth. Die Wand der Hohlräume ist von einem mehrschichtigen Kranz von Leukocyten ausgekleidet, von dem aus da und dort Züge die kernlose Masse durchbrechen; in derselben sind nach der Ziehl-Neelson'schen Methode, sowie nach Gram ganz spärliche Bacillen nachweisbar; im Bindegewebe keine.

Aus einer grösseren Zahl von Knötchen wird mit steriler Bouillon eine Aufschwemmung bereitet. Davon erhält

Kaninchen Nr. 3. 4 ccm intravenös. Gewicht bei der Injection 2200 grm. Wird nach 10 Tagen getödtet. Gewicht ist gleich geblieben. Section: Inguinal-Axillardrüsen vergrössert; auf Ausstrichpräparaten spärliche säurefeste Bacillen. In der Leber drei stecknadelkopfgrosse Knötchen. Im Ligamentum duodenohepaticum ein linsengrosser Abscess, mit spärlichen, säurefesten Bacillen.

Culturen aus einer Lymphdrüse und aus dem Blute blieben steril.

Schnittpräparate durch die Leber in der Umgebung eines Knötchens zeigen seine Zusammensetzung aus einem Haufen von Leukocyten, in welchen vom Rande her das Bindegewebe eindringt. Kleinere Haufen von Leukocyten sind da und dort im Lebergewebe zerstreut. Bacillen nirgends nachweisbar.



Meerschweinchen Nr. 54. Erhält von derselben Aufschwemmung wie Kaninchen Nr. 3 2 ccm intraperitoneal. Wird nach 12 Tagen getödtet. Zeigt bei der Section makroskopisch keine Veränderungen, ausser mehreren ganz feinen Knötchen im Netz und im Pankreas. Auf Ausstrichpräparaten keine Bacillen, auch nicht in den inguinalen Drüsen. Culturen blieben steril.

Auf Schnittpräparaten durch das Pankreas sieht man in einzelnen Drüsenläppchen rundliche, aus Leukocyten und Bindegewebszellen bestehende Zellhaufen, vom umliegenden Gewebe scharf abgegrenzt.

Bacillen konnten darin nicht nachgewiesen werden.

Maus Nr. 1. Erhält $^1/_2$ ccm einer Bouillonaufschwemmung von einer 1 Tag alten Agarcultur intraperitoneal. Wird nach 10 Tagen getödtet. Section: An der Injectionsstelle, im Peritoneum ein linsengrosser Abscess. Auf Ausstrichpräparaten säurefeste Bacillen, einzelne zu Fäden ausgewachsen mit seltenen Verzweigungen. Stecknadelkopfgrosse Knötchen im Peritoneum parietale und viscerale. Mikroskopisch darin säurefeste Bacillen. Milz vergrössert, ohne Knötchen. Mesenteriale Drüsen etwas gross. Sonst nirgends Veränderungen.

Aus dem Eiter wuchs eine Mischcultur von säurefesten Bacillen und Kokken, aus der Leber eine Reincultur von säurefesten Bacillen.

Schnittpräparate wurden nicht gemacht.

Maus Nr. 2. Erhält 1 ccm der Bouillonaufschwemmung einer Agarcultur aus dem peritonealen Exsudat von Meerschweinchen Nr. 50 intraperitoneal. Tod nach 36 Stunden. Section: Peritonitis fibrinosa. In den Belägen der Därme zahlreiche säurefeste Bacillen. Sonst keine makroskopischen Veränderungen. In Ausstrichpräparaten des Herzblutes säurefeste Bacillen; ebensolche in Präparaten von aus der Tiefe der Leber entnommenem Material.

In Culturen aus dem Blute wuchsen säurefeste Bacillen. — Andere Culturen wurden nicht angelegt.

Ohne aus dieser kleinen Versuchsreihe weitgehende Schlüsse ziehen zu wollen, darf man ihr trotzdem Folgendes entnehmen:

Bei Meerschweinchen tritt nach intraperitonealer Injection von Reincultur in geringer Menge oder von Aufschwemmungen erkrankter Organe Vergrösserung, hie und da Erweichung der inguinalen und mesenterialen Drüsen, sowie Bildung vereinzelter Knötchen im Peritoneum auf, bei gleichzeitigem Wohlbefinden des Thieres.

Intraperitoneale Injection einer grösseren Menge von Reincultur verursacht nach wenigen Tagen eine Allgemeininfection mit Invasion der Bacillen in die Organe und in's Blut, gefolgt von raschem Tode.

Subcutane Injection von Reincultur verursacht einen localen Abscess, mit Wanderung der Bacillen bis in die nächstliegenden Drüsen.



Gleichzeitige Injection von Reincultur und steriler Butter schafft das Bild der sogenannten schwartigen Peritonitis mit schweren Allgemeinerscheinungen, Invasion der Bacillen in's Blut und Tod des Thieres nach 4 bis 6 Tagen.

Bei einem mit der Reincultur intraperitoneal injicirten Kaninchen trat eine tuberculoseähnliche Erkrankung des Peritoneums und der Drüsen mit Bildung von verkästen Knötchen auch am Zwerchfell ein; das Thier wurde nach 10 Tagen getödtet, so dass der weitere Verlauf nicht verfolgt werden konnte.

Je ein mit der Reincultur und mit einer Aufschwemmung erkrankter Organe intravenös geimpftes Kaninchen, nach 8 bis 10 Tagen getödtet, zeigte noch lebensfähige Bacillen im Blut und in einzelnen Organen und Drüsen.

Bei einer weissen Maus erzeugte die intraperitoneale Injection einer geringen Menge von Reincultur nach 10 Tagen eine knötchenbildende Erkrankung des Peritoneums; intraperitoneale Injection einer grösseren Menge von Reincultur bei einer anderen Maus verursachte Allgemeininfection und Tod nach 48 Stunden.

Der pathologisch-histologische Befund ist bei den rasch tödtlich verlaufenden Fällen ein ziemlich negativer, mit Ausnahme des Bacillenbefundes in verschiedenen Organen; die Knötchen, die sich bei längerer Dauer des Krankheitsprocesses entwickeln, zeigten nur in einem Falle (Kaninchen Nr. 2) Verkäsung, sonst eitrige Einschmelzung und Neigung zur raschen bindegewebigen Organisation, und es gehen darin die Bacillen rasch zu Grunde. Typische Riesenzellen konnten in den Knötchen nicht gefunden werden; ihr Fehlen könnte aber bei der Differentialdiagnose gegenüber Tuberculose nicht entscheidend sein, da Riesenzellen im Allgemeinen die protrahirten Tuberculosen kennzeichnen, und auch bei der echten Impftuberculose des Meerschweinchens häufig ganz fehlen (z. B. bei Thier Nr. 15).

Von den bisher beschriebenen säurefesten Bacillen zeigt der eben charakterisirte die meiste Aehnlichkeit mit Möller's Graspilz II. Zwar konnte ich das häufige Auftreten von Zweigbildungen, welches Möller als gerade besonders charakteristisch für seinen Bacillus angiebt, nicht bestätigen. Die kleinen Differenzen bezüglich der culturellen Eigenschaften sind vielleicht nebensächlich. Möller's Angaben bezüglich der Pathogenität sind, wenigstens in der mir zugänglichen Veröffentlichung[1], etwas dürftig; er hat bei Injection von Reinculturen in die Bauchhöhle

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV.



von Meerschweinchen ungefähr denselben Befund erhalten wie bei echter Tuberculose, eine Angabe, die mit meinen oben beschriebenen Thierversuchen nicht übereinstimmt.

Die definitive Identificirung der beiden Bacillen muss also weiteren Untersuchungen überlassen werden.

Bacillus II.

Gezüchtet aus Thier Nr. 7.

Form: Stäbchen von sehr wechselnder Länge und Dicke (Taf. II, Fig. 2); fädig ausgewachsene Formen finden sich schon in frischen Culturen und in Ausstrichpräparaten aus den erkrankten Organen. In 2 bis 3 Wochen alten Agarculturen herrschen jene langen fädigen Formen vor und zeigen zahlreiche, echte Verzweigungen. Kolbenförmige Auftreibungen und gekörnte Formen sind häufig.

Anordnung: Theils regellos, theils in parallel angeordneten Zügen und verzweigten Figuren, in älteren Culturen ein dichtes, fädiges Geflecht bildend.

Färbbarkeit: Färbt sich mit Anilinfarben in der Kälte. Sehr gut nach Gram. Behält die rothe Farbe bei der Entfärbung nach Czaplewski. Nach der Ziehl-Neelson'schen Methode gefärbt, erträgt er eine kürzere, etwa minutenlange Einwirkung von 10 Procent Salpetersäure ohne Entfärbung. Bei längerer Säurewirkung zeigt er sich weniger säurefest wie Bacillus I, man findet dann alle Uebergänge von roter bis blassblauer Färbung. Die langen fädigen Formen haben ihre Säurefestigkeit grösstentheils eingebüsst und zeigen sich bei Nachfärbung mit Methylenblau blassblau gefärbt.

Eigenbewegung: Fehlt.

Sporen: Nicht beobachtet.

Sauerstoff: Notwendig.

Wachsthum: Rasch und üppig auf den gebräuchlichen Nährböden; bei 37° schon nach 24 Stunden makroskopisch sichtbar; etwas langsamer bei Zimmertemperatur, aber doch rascher wie beim erstbeschriebenen Bacillus.

Glycerinagarstrichkulturen: Zunächst feines, mattglänzendes Wachsthum längs des Impfstriches; nach 3 bis 4 Tagen hat sich der Belag mit wulstigem Rand auf der ganzen Agaroberfläche ausgebildet, sieht feucht aus, zeigt ausgesprochene Faltung (Taf. II, Fig. 2); ist vom Nährboden gut abhebbar. Nach einigen Wochen wird die Cultur trockener und nimmt einen bräunlichen Farbenton an. Stärkere Farbstoffbildung bis jetzt nicht beobachtet. Die einzelnen Colonieen sind erhaben rundlich, plattrandig, zeigen im Centrum feine Körnung.

In Agarstichculturen: An der Oberfläche ein leicht bräunlicher, gefalteter Belag; im Stichcanal geringes fädiges Wachstum mit feinen Ausläufern, nach der Tiefe zu abnehmend.



Auf Hesseagar bildet sich rasch ein feiner, schleierartiger Belag; es folgt aber keine stärkere Flächenausbreitung noch Faltung. Farbenton: blass-braunrosa.

In Gelatine ist das Wachstum weniger üppig wie auf Agar. Auf Strichculturen ein schleierartiger Belag mit feinen Ausläufern. Keine Faltung noch Farbstoffbildung. In Stichculturen körniges Wachsthum in den oberen Theilen des Stichcanales. An der Oberfläche ein leicht gefaltetes Häutchen.

In Bouillon: Weisser, sich säulenförmig aufdrehender Bodensatz und weisses, dickes, gefaltetes Häutchen, das am Rande des Gläschens emporsteigt. Flüssigkeit klar. Häutchen und Bodensatz nehmen im Laufe einiger Wochen einen braunrosa Farbenton an. In Zuckerbouillon noch üppiger, sonst ähnlich. Unangenehmer Geruch, an Trimethylamin erinnernd. Auf Hessebouillon ist das Häutchen dünn, der Bodensatz fein, fadenziehend.

Serum: Gelbes, feuchtes, glattrandiges Wachsthum längs des Striches. Keine flächenhafte Ausbreitung; keine Faltung.

Milch: Wird nicht coagulirt. Es bildet sich ein weissliches Häutchen.

Kartoffel: Erhabener Belag von gelbbrauner Farbe, ziemlich trocken und wenig gefaltet.

Indolbildung: Deutlich.

Keine Gasbildung, keine Verflüssigung der Gelatine, keine Säurebildung.

Resistenzfähigkeit: Erträgt ein halbstündiges Erhitzen auf 60°, ohne an Säurefestigkeit einzubüssen. Ein 10 Minuten langes Erwärmen auf 80° tödtet ihn ab.

Pathogenität.

Meerschweinchen Nr. 55. Erhält 2 ccm einer Bouillonaufschwemmung aus einer 10 Tage alten Agarcultur subcutan.

Es entwickelt sich nach 4 Tagen ein wallnussgrosser Abscess, der perforirt, und einen weisslichen dicken Eiter entleert, aus dem die säurefesten Stäbchen wieder als Reincultur gewonnen werden. Rasche Heilung. Wird nach 2 Wochen getödtet. Inguinale Drüsen vergrössert. Enthalten spärliche säurefeste Bacillen. Sonst nirgends Veränderungen.

Meerschweinchen Nr. 56. Erhält 2 ccm derselben Aufschwemmung wie Thier Nr. 55 intraperitoneal. — Tod nach 3 Tagen.

Section: Inguinale Drüsen etwas vergrössert. In der Bauchhöhle ca. 5 ccm einer gelblichen, klaren Flüssigkeit. Peritoneum parietale und viscerale zeigte fibrinös-eitrige Beläge. Leber, Magen, Milz mit ähnlichen dichten Belägen bedeckt. In der Leber mehrere trübe, weissgraue Stellen. Mesenteriale und sternale Drüsen etwas gross. Auf Ausstrichpräparaten derseben sowie des peritonitischen Exsudates und der Trübungen in der Leber finden sich säurefeste Bacillen, von denen einzelne zu langen Fäden ausgewachsen sind, während andere kolbenförmige Auftreibungen zeigen. Die fibrinösen Beläge zeigen eine enorme Menge von Bacillen, zu dichten Haufen verfilzt. In einer Cultur aus dem Herzblut wuchsen spärliche Colonieen von säurefesten Bacillen.

Schnitte durch die gehärteten Beläge der Milz ergeben ihre Zusammensetzung aus einem feinen faserigen Gewebe mit Einlagerung von zahlreichen



Leukocyten. Bacillen sind darin reichlich nachweisbar, aber deutlich nur nach der Gram'schen Methode. Bei der Entfärbung mit Salzsäurealkohol haben sie den rothen Farbstoff grösstentheils verloren und zeigen sich durch Methylenblau blass gefärbt.

Meerschweinchen Nr. 57. Erhält 2 ccm derselben Aufschwemmung wie Thier Nr. 55 + 2 ccm steriler Butter intraperitoneal. Tod am 12. Tage, nach starker Abmagerung. Die Section ergiebt vergrösserte Inguinaldrüsen; auf Ausstrichpräparaten sind sie vollgepfropft von säurefesten Bacillen, zum Theil die Lymphocyten ausfüllend, zum Theil frei, in verfilzten Häufchen; in der Bauchhöhle eine gelblichgraue Flüssigkeit in mässiger Menge. Peritoneum parietale und viscerale von einem feinen fibrinösen Belag bedeckt; Leber, Milz, Netz und Magen in dichte weisse Beläge eingemauert, in welchen massenhafte säurefeste Bacillen nachweisbar sind. Mesenteriale und sternale Drüsen vergrössert, enthalten säurefeste Stäbchen in mittlerer Zahl. In der Pleurahöhle ein Exsudat, ähnlich dem peritonealen, ebenfalls bacillenhaltig. Lungen frei.

In Culturen aus dem Herzblut, aus dem Exsudat, aus den sternalen Drüsen, aus der Leber wuchsen in kurzer Zeit die typischen, weisslichen gefalteten Reinculturen.

Schnitte durch die gehärteten Beläge ergeben deren Zusammensetzung aus feinfaserigen kern- und gefässreichem Bindegewebe, in dem da und dort rundliche Hohlräume ohne Inhalt zu sehen sind. Nach Gram gefärbt, sind in dem Gewebe zahllose schlanke Stäbchen einzeln und in dichten Haufen zerstreut; viele davon sind fädig ausgewachsen, andere schraubenartig gekrümmt. Nach der Ziehl-Neelson'schen Methode färben sich die Stäbchen blassrosa bis blau.

Schnitte durch ein Stückchen Leber, aus dem Innern entnommen, ergeben keine parenchymatösen Veränderungen, aber kleine Häufchen von nach Gram färbbaren schlanken Stäbchen, im intravenösen Bindegewebe. In der Marksubstanz der Niere ähnliche, nach Gram gefärbte, nach Ziehl-Neelson blauviolette Stäbchen. Aehnliche in Schnitten durch eine mesenteriale Drüse.

Maus Nr. 3. Erhält 1 ccm derselben Aufschwemmung wie Thier Nr. 55 intraperitoneal. Tod nach 24 Stunden. Die Section ergiebt eine fibrinöse Peritonitis, kleine nekrotische Herde in der Leber; sonst keine makroskopischen Veränderungen.

Aus Leber und Herzblut wurden die typischen Reinculturen gewonnen. In der Cultur aus der Leber zahlreiche fädige Formen mit Verzweigungen.

Weitere Thierversuche konnten aus äusseren Umständen nicht mehr gemacht werden.

Auch dieser Bacillus verursacht beim Meerschweinchen (Thier Nr. 56) und bei der Maus, wenn er in grösserer Menge intraperitoneal injicirt wird, eine rasch tödtlich verlaufende Erkrankung in Form einer fibrinös-eitrigen Peritonitis mit Wanderung der Bacillen bis in entfernte Drüsen

und in's Blut. Wird zugleich steriles Fett injicirt, so wird das Bild der acuten schwartigen Peritonitis hervorgerufen (Thier Nr. 57); ebenfalls mit Metastasen der Bacillen in's Parenchym der Unterleibsdrüsen und in die Brusthöhle.

Werden endlich Aufschwemmungen erkrankter Drüsen (Thier Nr. 41 und 42) Meerschweinchen intraperitoneal injicirt, so entsteht eine leichte Erkrankung in Form von Knötchen im Netz und von vergrösserten Drüsen. — Subcutane Injection von Reincultur verursacht einen localisirten Abscess, mit Wanderung der Bacillen in die nächstliegenden Drüsen.

Es ist dieser Bacillus vielleicht identisch mit dem von Petri-Rabinowitsch beschriebenen. Die culturellen Eigenschaften stimmen im Allgemeinen überein, wenn ich auch bis jetzt nach 3 Monaten auf Agarculturen niemals eine gelbe oder orange Farbstoffbildung finden konnte. Auch die Thierversuche stimmen im Allgemeinen; die Säurefestigkeit ist wie bei den Petri-Rabinowitsch'schen Stäbchen in Schnitten nur noch gering.

Dazu kommt bei meinem Bacillus das rasche Auswachsen zu Fäden und die zahlreichen echten Verzweigungen, wodurch er sich wieder mehr Möller's Graspilz II nähern würde.

Die folgenden drei Mikroorganismen wurden erst wenige Wochen vor Semesterschluss isolirt, so dass sie vor der Hand aus äusseren Gründen nur unvollkommen beschrieben werden können.

Bacillus III.

Gezüchtet aus Meerschweinchen Nr. 36.

Form: Stäbchen, von wechselnder Länge (Taf. II, Fig. 3), im Allgemeinen die kurzen Formen vorherrschend, selten kolbenförmige Auftreibungen und Auswachsungen; längere Fäden mit spärlichen Verzweigungen.

Anordnung: häufig regellos; in manchen Culturen sehr deutliche, winkelartige Stellung der Stäbchen zu einander.

Färbbarkeit: Färbt sich mit den Anilinfarben in der Kälte; sehr gut nach Gram. Entfärbt sich nach Czaplewski. In Ausstrichpräparaten aus den erkrankten Organen färbt er sich roth nach Ziehl-Neelson, ebenso in frischen (1 bis 2 Tage alten) Agar- und Bouillonculturen; in Milchculturen bleibt die Säurefestigkeit etwas länger, es finden sich aber in solchen Präparaten neben noch gut säurefesten Stäbchen stets alle Farbenübergänge



bis zum blassblauen. Nach dem 2. Tag konnte ich im Allgemeinen keine Säurefestigkeit mehr constatiren.

Geringe Beweglichkeit in frischen Culturen.

Das Wachsthum findet auf den üblichen Nährböden rasch statt, auch bei Zimmertemperatur.

Auf Glycerinagarstrichculturen bildet sich ein feuchter Belag, der nach wenig Tagen einen intensiv mennigrothen Farbenton annimmt und Andeutung von horizontaler Faltung zeigt. Einzelne Colonieen sind rund, im Centrum fein gekörnt und von einer feingefranzten Randzone umgeben (Taf. II, Fig. 3). Bei Bruttemperatur ist der Farbenton mehr rosa.

In Agarstichculturen bildet sich an der Oberfläche ein feuchter, rosa Belag, mit blattartiger Randzeichnung. Geringes weissliches Wachsthum im Stichcanal.

Auf Gelatine ist das Wachsthum ganz ähnlich. In Stichculturen ist es in der oberen Hälfte des Stichcanals ziemlich üppig, mennigroth; nach unten abnehmend, weisslich. Auf Platten zeigen die einzelnen Colonieen, sowohl die oberflächlichen, wie die tiefer liegenden, bei Vergrösserung 60:1 ein fein gekörntes Centrum mit hellerer Randzone, die mit zierlich verästelten Ausläufern endet.

Die Bouillon wird zunächst diffuse getrübt; es sondert sich an der Oberfläche ein blassrosa Häutchen ab, das sich faltet und am Rande des Glases emporwächst. Dann bildet sich ein klumpig-bröckeliger Bodensatz; die Flüssigkeit hellt sich vollkommen auf.

Auf Serum ist das Wachsthum ähnlich wie auf Agar, nur weniger üppig, der Farbstoff mehr in's orangerothe spielend.

Milch wird nicht coagulirt; es bildet sich ein blassrosa Häutchen.

Auf Kartoffel bildet sich ein intensiv mennigrother, feuchter Belag mit buchtiger Begrenzung und geringer Faltung.

Der Befund bei dem Thier, aus dessen Organen der eben beschriebene Bacillus isolirt wurde, erfordert eine genauere Kritik. Bei keinem der übrigen Thiere, aus deren Organen tuberkelbacillenähnliche Mikroorganismen isolirt wurden, war der makroskopische wie der histologische Befund so ähnlich der echten Tuberculose wie in diesem Falle. Es wurde daher auch, da augenblicklich Mangel an Meerschweinchen war, kein weiterer Thierversuch mit den erkrankten Organen gemacht, sondern blos eine grössere Anzahl von Serumröhrchen geimpft. Nach 24 Stunden waren aber auf einer Anzahl derselben, sowie auf einer Hesseagarplatte, die mit dem käsigen Material aus retro-peritonealen Drüsen bestrichen worden war, makroskopisch sichtbare Colonieen von säurefesten Bacillen gewachsen, die sich in der oben beschriebenen Weise weiter züchten liessen.

In der Litteratur fand ich über ähnliche Bacillen folgende Angaben:

Ascher (5) fand bei zwei ebenfalls mit Butter geimpften Meerschweinchen tuberculoseähnliche Erkrankung, und konnte aus den erkrankten Organen in beiden Fällen eine Reincultur von nicht säurefesten Stäbchen gewinnen, die einen intensiv ziegelrothen Farbstoff bildeten.

Hormann und Morgenroth (6) berichteten anlässlich ihrer Butteruntersuchungen über ähnliche ziegelroth wachsende Bacillen, die sie ebenfalls aus den erkrankten Organen von mit Butter geimpften Meerschweinchen isolirt haben. Sie halten aber diese Bacillen für wahrscheinlich nicht pathogen, sondern nehmen an, dass es sich um eine Mischinfection mit echter Tuberculose gehandelt hat, obgleich diese Vermuthung weder durch die Cultur, noch durch einen weiteren Thierversuch bestätigt ist.

Grasberger (12) bestätigt an der Hand von sechs Fällen das Vorkommen von solchen, ziegelrothe Culturen bildenden Bacillen in den erkrankten Organen von mit Butter injicirten Meerschweinchen; er hat in jüngeren Culturen auch eine geringe Säurefestigkeit der betreffenden Bacillen beobachtet, und ist eher wie obige Autoren geneigt, denselben eine ursächliche Bedeutung bei der Erkrankung zuzuschreiben.

Bei Thier Nr. 36 eine Mischinfection mit echter Tuberculose sicher auszuschliessen ist des mangelnden Thierversuches wegen nicht möglich, um so weniger, als ein mit demselben Reste geimpftes Thier an einer durch Cultur und Thierversuch gesicherten echt tuberculösen Erkrankung litt. Aber ebenso wenig hat man das Recht, eine Mischinfection mit Sicherheit anzunehmen. Das dritte Thier jener Serie wurde ja auch nicht tuberculös; ferner war auch die Bereitung des injicirten Materiales eine verschiedene, indem das sicher tuberculöse Thier den fettfreien, das andere den fetthaltigen Bodensatz erhalten hatte.

Der betreffende Bacillus nähert sich ja sowohl morphologisch wie culturell den beschriebenen säurefesten, tuberkelbacillenähnlichen Mikroorganismen, und so ist nicht von vornherein auszuschliessen, dass er auch eine tuberculoseähnliche Erkrankung hervorrufen kann.

Die geringe Säurefestigkeit ist allerdings auffallend; doch sind in letzter Zeit auch Entwickelungsstadien bei echten Tuberkelbacillen beschrieben worden, in welchen dieselben ihre Säurefestigkeit theilweise einbüssen, ohne an Virulenz verlustig zu gehen (3). Dasselbe ist von den ebenfalls in diese Gruppe gehörenden Leprabacillen (14) bekannt.

Bacillus IV.

Gezüchtet aus Thier Nr. 39.

Form: Schlanke Stäbchen von wechselnder Länge, sehr rasch zu längeren Fäden mit einzelnen echten Verzweigungen auswachsend. Gekörnte Formen und kolbige Auftreibungen sind da und dort nachweisbar.

Anordnung: Die kurzen Formen häufig in parallel geordneten, gewundenen Zügen, die längeren Fäden sich netzartig durchflechtend.

Färbbarkeit: Färbt sich mit den üblichen Farbstoffen in der Kälte; sehr leicht nach Gram. Behält bei der Czaplewski'schen Entfärbung den rothen Farbstoff. Ist bei der Ziehl-Neelson'schen Methode säurefest, auch noch die fädigen Formen aus 3 Wochen alten Culturen. Aeltere Culturen konnten noch nicht untersucht werden.

Eigenbewegung fehlt.

Wachsthum: Rasch auf allen üblichen Nährböden, auch bei Zimmertemperatur.

Glycerinagarstrichculturen: Nach 24 Stunden mattglänzender, weisser Belag, der rasch erhaben wird und im Centrum feine, netzartige Faltung aufweist, während die Randpartieen homogen bleiben. Farbstoffbildung bis jetzt nicht beobachtet.

Die einzelnen Colonieen sind im Centrum gekörnt und nabelartig eingezogen. Die Peripherie ist homogen.

In Agarstichculturen: An der Oberfläche dicker, weisser, central gekörnter Belag; geringes Wachsthum mit feinen, lockigen Ausläufern im oberen Theil des Stichcanals.

Auf Hesseagar sind die Colonieen schleierartig zart, rundlich, glattrandig.

Auf Gelatine ist das Wachsthum ebenfalls rasch; an der Oberfläche ein weisser, gefalteter Belag, im Stichcanal feines, körniges Wachsthum.

In Bouillon entsteht zunächst eine diffuse Trübung, die sich bald aufhellt, während sich an der Oberfläche ein weisses, faltiges, am Rande des Glases emporwachsendes Häutchen bildet, und ein fetziger Bodensatz, zu dem von der Oberfläche aus stets neue Fetzen heruntersinken.

Auf Serum wenig üppiges, gelbliches Wachsthum.

Milch wird nicht coagulirt; es bildet sich ein weisses Häutchen an der Oberfläche.

Auf Kartoffel bildet sich ein grauweisser, rahmiger, feuchter Belag. Farbstoffbildung bisher nicht beobachtet.

Dieser Bacillus zeigt, besonders im mikroskopischen Bilde, grosse Aehnlichkeit mit dem oben als Bacillus II beschriebenen. Während der bisherigen, noch zu kurzen Beobachtungszeit unterscheiden sich die beiden Bacillen vorwiegend in den Agarculturen, indem Bacillus IV sich durch eine feuchtere Beschaffenheit, Fehlen jeglicher Farbstoffbildung und regelmässige innere Zeichnung sowohl der einzelnen Colonieen wie der ganzen Oberflächencultur auszeichnet. Sollten sich in der Folge weitere Unterscheidungsmerkmale zeigen, so wird noch Näheres darüber berichtet werden.



Bacillus V.

Gezüchtet aus Thier Nr. 40.

Form: Stäbchen von wechselnder Länge und Dicke (Taf. II, Fig. 4). Die kurzen Formen vorherrschend; bisher noch keine Verzweigungen beobachtet.

Anordnung: Theils regellos, theils in parallel angeordneten Zügen und verzweigten Figuren.

Färbbarkeit: Leicht färbbar mit den gebräuchlichen Anilinfarben; gut gefärbt nach Gram; nach der Ziehl-Neelson'schen Methode nur in ganz frischen Culturen säurefest; schon nach 2 Tagen ist die Säurefestigkeit vollkommen verloren gegangen. Ebenso entfärbt er sich nach der Czaplewski'schen Methode.

Wachsthum: Rasch auf den üblichen Nährböden, auch bei Zimmertemperatur.

Glycerinagarstrichculturen (Taf. I, Fig. 4): Gelbrosa, matter Belag, bei Zimmertemperatur orangeroth. Innere Zeichnung grob gekörnt. Im Condenswasser röthliche Schüppchen.

Agarstichculturen: An der Oberfläche ein hellrosa Belag mit warzenförmigen Erhebungen. Geringes, feinkörniges, weisses Wachsthum längs des Stiches mit lockigen Ausläufern.

Auf **Hesseagar** sind die Colonieen zart, gelbrosa und durchscheinend.

Gelatineplatten zeigen blassrosa Colonieen, die bei Vergrösserung 60:1 ein dunkleres, fein gekörntes Centrum und feingefranzte Ausläufer zeigen.

In **Gelatinestichculturen** entsteht an der Oberfläche ein gefalteter rosa Belag mit blattartiger Begrenzung. Dem Stich entlang feinkörniges Wachsthum mit faserigen Ausläufern.

In **Bouillon** entsteht ein dichtes, gekörntes, blassrosa gefärbtes Häutchen, welches am Rande des Glases emporsteigt, während sich fortwährend einzelne Fetzen davon ablösen und als Bodensatz heruntersinken.

Auf **Serum** bildet sich ein gelbrosa, nicht sehr üppiger, nicht gefalteter Belag.

Milch: Wird nicht coagulirt. Es bildet sich ein blassrosa Häutchen.

Auf **Kartoffel:** Bildet sich ein blassrosa, trockener Belag mit buchtiger Begrenzung und körniger Zeichnung.

Dieser Bacillus zeigt grosse Aehnlichkeit mit Bacillus III, namentlich was sein Verhalten gegenüber Säure anbetrifft. Auch die Culturen zeigen vielfach Uebereinstimmung. Er unterscheidet sich von demselben durch die mehr trockene, schuppige Beschaffenheit der Culturen und durch den verschiedenen Farbenton derselben.

Es werden sich vielleicht im Laufe der nächsten Wochen noch weitere Aehnlichkeiten oder Abweichungen bemerkbar machen.

Die hauptsächlichsten morphologischen und biologischen Eigenschaften der fünf Bacillen sollen in einer kurzen Tabelle übersichtlich zusammengestellt werden.

	Bacillus I	Bacillus II	Bacillus III	Bacillus IV	Bacillus V
Morphologie	vorwiegend kurze Formen; selten Verzweigungen	vorwiegend lange Formen mit zahlreichen Verzweigungen	vorwiegend kurze Formen; selten Verzweigungen	wie II	wie III
Säurefestigkeit	gut säurefest; auch in histologischen Schnitten und in allen Culturen	gut säurefest; nur die längeren Formen und die Bacillen in den Schnitten haben Neigung zur Entfärbung	nur im Thierkörper und in ganz frischen Culturen säurefest	wie II	wie III
Agarcultur	feuchter, stark gefalteter, orange-gelber Belag	feuchter grauweisser, später bräunlich und trockener werdender, stark gefalteter Belag	feuchter mennig-rother, wenig gefalteter Belag	feuchter, weisser, gefalteter Belag mit homogener Randzone, ohne Farbstoffbildung	gelbrother, körniger Belag, etwas trocken
Bouilloncultur	Kammhaut an der Oberfläche; klumpiger Bodensatz. Flüssigkeit klar. Kein Geruch	Kammhaut an der Oberfläche; klumpiger Bodensatz. Flüssigkeit klar. Unangenehmer Geruch	Kammhaut an der Oberfläche; fetziger Bodensatz. Flüssigkeit klar. Unangenehmer Geruch	wie II	körniges Häutchen an der Oberfläche; fetziger Bodensatz. Flüssigkeit klar. Kein Geruch

Es liegt nun nicht im Rahmen dieser Arbeit, auf die zahlreichen Veröffentlichungen über diese Bacillengruppe näher einzugehen oder darüber vergleichende Zusammenstellungen zu machen. Ebenso wenig konnten weitergehende histologische Untersuchungen gemacht werden, wie sie Mayer (15) auf Serienschnitten durch die Bauchhöhle von mit Butter und säurefesten Bacillen geimpften Meerschweinchen beschreibt. Auch die Strahlenpilzformen, die Lubarsch (16) bei allen Bacillen dieser Gruppe durch locale Impfungen in die Organe nachweisen konnte, habe ich nicht näher verfolgt.

Das praktische Resultat dieser Arbeit ist dasjenige, dass nachgewiesen wurde, wie in unserer Marktbutter neben echten Tuberkelbacillen verschiedene tuberkelbacillenähnliche Mikroorganismen vorkommen, und wie diese sowohl, was die Säurefestigkeit als was ihre übrigen Eigenschaften anbetrifft, mannigfache Abstufungen und Uebergänge darbieten.

Das Krankheitsbild, das sie verursachen, kann mit typischer, fortgeschrittener Tuberculose nicht wohl verwechselt werden; könnte aber doch, bei wenig entwickelter, initialer Tuberculose Anlass zu Täuschungen geben, so dass zur sicheren Diagnose stets der culturelle Befund oder ein weiterer Thierversuch herangezogen werden müsste.

Zum Schlusse möchte ich noch Hrn. Prof. Dr. O. Wyss für die gütige Ueberlassung des gesammten Materiales und Hrn. Docenten Dr. Silberschmidt für die Anregung zur Arbeit und seinen stets bereitwilligst ertheilten Rath herzlich danken.



Litteratur-Verzeichniss.

1. Roth, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Butter. *Correspondenzbl. für Schweizer Aerzte.* 1894.

2. Rabinowitsch, Zur Frage des Vorkommens von Tuberkelbacillen in der Marktbutter. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVI.

3. Morgenroth, Ueber das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Margarinebutter. *Hygienische Rundschau.* 1899.

4. Petri, Zum Nachweis von Tuberkelbacillen in Butter und Milch. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1898.

5. Ascher, Untersuchungen von Butter u. Milch auf Tuberkelbacillen. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXII.

6. Hormann und Morgenroth, Ueber Bakterienbefunde in der Butter. *Hygienische Rundschau.* 1898.

7. Korn, Tuberkelbacillenbefunde in der Marktbutter. *Archiv für Hygiene.* Bd. XXXVI.

8. Roth, Ueber den mikroskopischen Nachweis von Tuberkelbacillen in der Butter. *Correspondenzbl. für Schweizer Aerzte.* 1898.

9. Möller, Ein neuer säurefester Bacillus aus der Tuberkelbacillengruppe. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV.

10. Korn, Zur Kenntniss der säurefesten Bacillen. *Ebenda.* Bd. XXV.

11. Derselbe, Weitere Beiträge zur Kenntniss der säurefesten Bacillen. *Ebenda.* Bd. XXVII.

12. Grasberger, Ueber die nach intraperitonealer Injection von Butter beim Meerschweinchen entstehenden Veränderungen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1899.

13. Klein, Zur Kenntniss der Verbreitung des Bacillus tuberculosis u. pseudotuberculosis in der Milch, sowie der Biologie des Bacillus tuberculosis. *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXVIII.

14. Barannikow, Beitrag zur Bakteriologie der Lepra. *Ebenda.* Bd. XXVII.

15. Mayer, Zur histologischen Differentialdiagnose der säurefesten Bakterien aus der Tuberculosegruppe. Virchow's *Archiv.* Bd. CLX. Hft. 2.

16. Lubarsch, Zur Kenntniss der Strahlenpilze. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXI.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. I u. II.)

Tafel I.

Fig. 1. Bacillus I. 4 Wochen alte Agarcultur, 3 Tage bei 37°, dann bei Zimmertemperatur.

Fig. 2. Bacillus II. 3 Wochen alte Agarcultur, 8 Tage bei 37°, dann bei Zimmertemperatur.

Fig. 3. Bacillus III. 3 Wochen alte Agarcultur, 7 Tage bei 37°, dann bei Zimmertemperatur.

Fig. 4. Bacillus V. 3 Wochen alte Agarcultur, 7 Tage bei 37°, dann bei Zimmertemperatur.

Tafel II.

Fig. 1. Bacillus I. Aus einer 24 Stunden alten Agarcultur. Färbung nach Ziehl-Neelson.

Fig. 2. Bacillus II. Aus einer 3 Wochen alten Agarcultur. Färbung nach Ziehl-Neelson.

Fig. 3. Bacillus III. Aus einer 4 Tage alten Bouilloncultur. Färbung nach Gram.

Fig. 4. Bacillus V. Aus einer 3 Wochen alten Bouilloncultur. Färbung nach Gram.

Fig. 5. Bacillus I. Bacillenhäufchen im Lebergewebe. Schnittpräparat. (Siehe Meerschweinchen Nr. 52.) Färbung nach Ziehl-Neelson.

Fig. 6. Bacillus I. Ausstrichpräparat aus einer sternalen Lymphdrüse von Meerschweinchen Nr. 52. Färbung nach Ziehl-Neelson.



Krankheitserreger und Krankheitsbild.

Von

Dr. **J. Petruschky,**
Director des hygienischen Untersuchungsamtes und Stadtarzt zu Danzig.

Nachdem die grundlegende Methode Koch's es ermöglicht hatte, für eine grössere Reihe von Infectionskrankheiten die Erreger zu finden und ihre ätiologische Bedeutung durch Reincultur und Infectionsversuche sicher zu beweisen, hatte sich fast allgemein die Annahme eingebürgert, dass jedem typischen Bilde einer Infectionskrankheit auch ein einziger typischer Infectionserreger entspreche. Milzbrand, Cholera, Diphtherie, Typhus abdominalis, Erysipelas, Puerperalfieber waren in epidemiologischer Hinsicht seit Langem als gut charakterisirte Infectionskrankheiten erkannt worden, die bei ihrer Weiterverbreitung immer wieder dieselben typischen Krankheitsbilder zu erzeugen pflegten. Demnach musste in richtiger logischer Folgerung immer wieder derselbe Infectionserreger es sein, der die epidemische Cholera, Diphtherie u. s. w. erzeugte, und diese Auffassung musste natürlich eine ganz besonders feste Stütze finden, als man die Krankheitserreger in Händen hatte, sie beliebig fortpflanzen und mit einem Theil derselben wenigstens bei Thieren das gleiche Krankheitsbild wie beim Menschen erzeugen konnte, so z. B. die typische Blutinfection mit dem Milzbrandbacillus, die erysipelatöse Hautentzündung am Kaninchenohr mit dem Fehleisen'schen Streptococcus, Abscesse mit den Eiterkokken.

Erst die weitere Forschung konnte mehr und mehr Material herbeischaffen, welches die classische Einfachheit jener Beziehung zwischen Krankheitserreger und Krankheitsbild doch ganz wesentlich störte. Man lernte eine ganze Reihe von Ursachen kennen, welche einerseits die Eigenschaften des Krankheitserregers, andererseits die Eigen-



schaften des befallenen Organismus beeinflussen und dadurch die Beziehungen zwischen Krankheitserreger und Krankheitsbild wesentlich zu modificiren im Stande sind.

Einerseits fiel es auf, dass man durch lange Fortzüchtung eines Krankheitserregers auf künstlichen Nährböden seine krankheitserregenden Eigenschaften bedeutend abschwächen, ja ganz vernichten konnte; andererseits hatte bereits Pasteur gezeigt, dass durch fortgesetzte Verimpfung von Thier auf Thier, durch sogenannte Thier-„Passagen“ die Infectionskraft wesentlich gesteigert werden konnte. So bildete sich zunächst der Begriff der „Virulenz“ heraus. Die Erfahrung, dass bestimmte Thiere für gewisse Infectionserreger überhaupt unempfänglich, andere hoch empfänglich, wieder andere widerstandsfähiger waren, schuf den Begriff der „specifischen“ Virulenz, oder, von der Seite des befallenen Organismus betrachtet, die Begriffe der Empfänglichkeit („Disposition“), der Widerstandsfähigkeit („Immunität“), in deren Mitte man den Begriff der „mittleren Empfänglichkeit“ setzen kann, der für die menschliche Pathologie von erheblicher Bedeutung ist.

Auch individuelle Unterschiede in der Empfänglichkeit von Thieren und Menschen mussten in die Augen fallen. Das genaue bakteriologische Studium der neueren Cholera-Epidemieen förderte die überraschende Erkenntniss zu Tage, dass der Cholerabacillus durchaus nicht bei allen Menschen das Krankheitsbild der schweren asiatischen Cholera hervorrufen muss, dass es nicht nur „mildere Formen“ der Cholerainfection giebt, sondern dass der Erreger der Cholera den Verdauungscanal mancher Menschen passiren kann, ohne überhaupt merkliche Krankheitserscheinungen hervorzurufen, und dass er auch bei Cholerareconvalescenten nach völliger Genesung sich noch sehr lange im Verdauungscanal lebend und ansteckungsfähig für Andere erhalten kann. Diesen Beobachtungen, deren gewaltige Tragweite für die Prophylaxis sich alsbald aufdrängte, reihten sich weitere an, welche bewiesen, dass auch der Diphtheriebacillus im Halse vieler Diphtherie-Reconvalescenten, der Typhusbacillus im Urin (wahrscheinlich auch in den Fäces) mancher Typhuskranken sich lange bis in die Reconvalescenz hinein lebend erhalten kann; ja bezüglich des Diphtheriebacillus zeigten neuere Beobachtungen von Ernst Neisser[1] (Stettin), dass es Menschen giebt, welche in so fester Symbiose mit dem Diphtheriebacillus leben, dass eine Entfernung aus ihrem Organismus dem Verfasser bisher nicht möglich wurde.

Alle diese Beobachtungen ergeben für unsere gegenwärtige Betrachtung die wichtige Thatsache, dass wir in einem Menschen den Krank-

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900.

heitserreger finden können ohne das Krankheitsbild, welches er gewöhnlich zu erzeugen pflegt. (Wer erinnert sich hierbei nicht auch der alten Erfahrung von der „Scarlatina sine exanthemate", die den Aerzten lange vor der bakteriologischen Aera bekannt war.)

Aber auch für den umgekehrten Fall haben sich die Beispiele mehr und mehr gehäuft, für den Fall nämlich, dass das typische — wenigstens klinisch typische — Bild einer bestimmten Infectionskrankheit vorliegen kann, ohne dass der „specifische", d. h. der epidemiologisch besonders gefürchtete Krankheitserreger vorhanden zu sein braucht.

Diese eigenartigen Fälle konnten natürlich nur durch sorgfältiges bakteriologisches Studium aufgeklärt werden. Am ersten war es wohl das Bild der Rachen-„Diphtherie", von welchem erkannt wurde, dass nicht immer der „Diphtheriebacillus" es sein muss, der es erzeugt, dass vielmehr auch der Streptococcus dasselbe Bild der „häutigen Bräune" erzeugen **kann**, dass namentlich bei „Scarlatina-Diphtherie" **fast immer** nur der Streptococcus, bei „Maserndiphtherie" dagegen meistens der Löffler'sche Bacillus zu finden ist. Auch entsinne ich mich eines typischen Falles von fibrinösem Kehlkopf-Croup bei einer Erwachsenen, in welchem die ganze, ringförmige Membran, während ich laryngoscopirte, ausgehustet wurde, und in welchem diese Membran mikroskopisch wie culturell nichts als eine Reincultur langer Streptokokken enthielt. Wegen dieser doppelten Aetiologie der „Diphtherie" und des „Croup" hat C. Fraenkel bereits den praktischen Vorschlag gemacht, zwischen „Stäbchendiphtherie" und „Kokkendiphtherie" auch in der Diagnose zu unterscheiden, ein Ansatz zu ätiologischer Benennung, deren Wichtigkeit und Nothwendigkeit in die Kreise der praktischen Aerzte noch lange nicht tief genug eingedrungen ist.

Dass die „Darmdiphtherie" natürlich ein ätiologisch ganz für sich stehendes Krankheitsbild darstellt, soll hier nur nebenbei bemerkt werden. Es erscheint fast wie ein schlechter Scherz, wie ein Missverstehen aller ätiologischen Forschung, wenn das Fehlen des „Diphtheriebacillus" bei der „Darmdiphtherie" von pathologischer Seite als Argument gegen die ätiologische Bedeutung des „Diphtheriebacillus" vorgebracht wird.

Ein weiteres Beispiel für die Erzeugung eines typischen Krankheitsbildes durch einen Infectionserreger anderer Art bietet die sogenannte „Cholera nostras". Bereits bei älteren Choleraepidemieen war es beobachtet worden, dass es Krankheitsbilder giebt, welche mit dem der asiatischen Cholera fast genau übereinstimmen, aber in die ätiologische Gruppe der echten Cholera offenbar nicht hineingehören. Bei den neueren Epidemieen konnte auch hierüber durch bakteriologische Unter-

suchung Aufschluss gewonnen werden, zunächst dadurch, dass der Koch'sche Cholerabacillus sich bei den „Nostras"fällen nicht fand, ferner auch dadurch, dass in einem typischen derartigen Falle Beck[1] als Erreger des schweren Krankheitsbildes Streptokokken nachwies.

Auch das Bild der scheinbar so typischen „crupösen Pneumonie" kann durch verschiedene Mikroorganismen hervorgerufen werden. Bekannt ist, dass Friedländer und A. Fränkel bereits jeder den „echten" Pneumonie-Erreger gefunden zu haben glaubten. Neuere Nachprüfungen zeigten, dass Keiner von Beiden ganz im Unrecht ist, wenn auch der Fränkel-Weichselbaum'sche Diplococcus entschieden der häufigste Pneumonie-Erreger ist. Bei meinen zahlreichen bakteriologischen Leichenuntersuchungen fand ich in mehreren Fällen echter crupöser Pneumonie nur den langen Streptococcus als Erreger vor; aber von ganz besonderem Interesse war es mir, als ich neuerdings in einem Falle von Typhus abdominalis, complicirt mit crupöser Pneumonie, den Diplococcus catarrhalis nicht nur in den infiltrirten Lungentheilen, sondern in allen Organen der Leiche fand, und zwar in der Milz gemischt mit dem Typhusbacillus, in Leber und Niere, sowie im Blute nur den Diplococcus catarrhalis (Entfärbung nach Gram).

Wegen der anscheinenden Seltenheit dieses Vorkommens sei der Obductionsbefund kurz fixirt.

K., Martha, 14 Jahr; aufgenommen 17. I. 1900, gestorben 23. I. 1900.
Klinische Diagnose: Typhus abdominalis, Pneumonia dextr. inf.
Obductionsbefund 24. I. 1900 (Auszug):

In der rechten Pleurahöhle ca. 300 ccm leicht getrübte seröse Flüssigkeit.

Rechte Lunge: Unterlappen ganz luftleer und fest infiltrirt, im Zustande rother Hepatisation; Mittellappen theils roth, theils grau hepatisirt.

Linke Lunge: Hypostase im Unterlappen.

Milz: weich, mässig vergrössert.

Darm: kurz oberhalb der Coecalklappe beginnend, am reichlichsten im Colon transversum eine Anzahl theils markig infiltrirter, theils mit grauen Schorfen bedeckter, theils ulcerirter Partieen. An der Klappe selbst ein grosses Geschwür.

Mesenterium enthält zahlreiche geschwollene Lymphdrüsen.

Anatomische Diagnose: Typhus abdominalis, Pneumonia fibr. dextr.

Bakteriologischer Befund: In den infiltrirten Partieen der Lunge mikroskopisch und culturell: Diplococcus catarrhalis reichlich in Reincultur.

Milz:	Diplococcus	catarrhalis	und	Typhusbacillus.
Leber:	„	„	in	Reincultur.
Niere:	„	„	„	„
Herzblut:	„	„	„	„



[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. Nr. 40.

Dass der Fränkel-Weichselbaum'sche Diplococcus lanceolatus nicht nur Pneumonie, sondern eine ganze Reihe von Entzündungen hervorzurufen vermag, so Pleuritis und Meningitis, andererseits auch einfache Bronchitis (namentlich als Secundärinfection bei Tuberculose), ist längst bekannt. Etwas weniger vielseitig ist der Influenzabacillus. In die Erzeugung der acuten Infectionen des Bronchialsystems und der Lunge theilen sich demnach der Diplococcus lanceolatus, der Streptococcus, der Influenzabacillus und der Diplococcus catarrhalis. Auch der Pestbacillus als Erreger der „Pestpneumonie" muss hier mit genannt werden.

Dass die typischen Krankheitsbilder der Pleuritis, Peritonitis, Cystitis, Meningitis cerebrospinalis, Phlegmone (incl. Panaritium) durch verschiedene Entzündungserreger hervorgerufen werden können (ausser den genannten kommen noch der Jaeger'sche Coccus, der Staphylococcus aureus und der Bacillus coli in Frage), ist hinreichend bekannt, so dass ich mir nähere Ausführungen der Kürze halber ersparen kann.

Kurz erörtern möchte ich jedoch noch die Aetiologie des Erysipels, einer Infectionskrankheit, deren typischer Charakter eigentlich auf eine völlige Einheitlichkeit der Aetiologie von vornherein zu deuten scheint. Trotzdem liegt die Sache nicht so einfach. Dass Streptokokken pyogener Herkunft auch beim Menschen typisches Erysipel erzeugen können, habe ich seiner Zeit einwandfrei gezeigt.[1] Ebenso, dass zur Erzeugung des Erysipels am Kaninchenohr ein bestimmter mittlerer Grad der Virulenz von Streptokokken, gleichviel welcher Herkunft, gehört. Unter Mitbeobachtung Koch's und Pfeiffer's habe ich seiner Zeit im Institut für Infectionskrankheiten aus septischer Tuberculose einen Streptococcus „M." gewonnen, der anfänglich bei Infection mit geringen Mengen für Kaninchen völlig avirulent war; durch intraperitoneale Masseninfection gelang es zunächst ein Thier zu tödten; von diesem aus wurde dann durch Fortsetzung der intraperitonealen Infection durch mehrere Passagen die Virulenz des Streptococcus so gesteigert, dass er bei Impfung geringer Mengen auf das Kaninchenohr zunächst ein typisches Erysipel, durch weitere Passagen eine tödtliche Allgemeininfection bewirkte. Aus allen diesen Versuchen ging hervor, dass nicht die Specifität des Erregers, sondern die Specifität seiner Virulenz es ist, von der die Entstehung des Krankheitsbildes „Erysipelas" abhängt, cutane Impfung vorausgesetzt.

Um mich nun zu überzeugen, ob es auch andere Mikroorganismen giebt, welche das Krankheitsbild des Erysipels am Kaninchenohr zu er-

---

[1] Entscheidungsversuche zur Frage der Specifität des Erysipel-Streptococcus. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIII. S. 142.

zeugen vermögen, hatte ich seiner Zeit zusammen mit Hrn. Dr. Delius im Koch'schen Institut Infectionsversuche mit Mikroorganismen verschiedener Herkunft angestellt. Das Ergebniss war, dass verschiedene Stämme des „Bacterium coli“, so namentlich einige aus menschlicher Cystitis stammende, das charakteristische Bild des Kaninchenohr-Erysipels zu erzeugen vermochten.[1] Diese im Institut bekannten Versuche, welche durch meinen Fortgang unterbrochen wurden, sind dann durch andere Collegen wieder aufgenommen worden; so theilte z. B. Uhlenhuth[2] derartige Versuche mit.

Ausser verschiedenen Stämmen des Bacterium coli fand sich jedoch auch ein Stamm von Staphylococcus aureus, welcher ebenfalls am Kaninchenohr typisches Erysipel erzeugte. Diese Beobachtung war mir um so auffälliger als bereits Jordan[3] auf Grund zweier Beobachtungen behauptet hatte, dass beim Menschen Erysipel durch den Staphylococcus aureus hervorgebracht werden könne. Zwar kann mir die Methodik Jordan's auch heute noch nicht einwandsfrei erscheinen, weil sie nicht ausschloss, dass ein gleichfalls etwa vorhandener Streptococcus durch den üppiger wachsenden Staphylococcus überwuchert war; aber die Möglichkeit, dass es sich so verhalten könne, wie Jordan behauptet hatte, schien mir durch meine Beobachtung am Kaninchenohr gestützt. Ich entsinne mich ferner, dass ich bei der bakteriologischen Untersuchung menschlicher Erysipel aus den excidirten Hautstückchen sehr häufig, ja fast immer Staphylococcus (aureus oder albus oder beide) neben Streptokokken gewonnen hatte, welch' letztere bei meinen Untersuchungen allerdings nie fehlten, die namentlich mikroskopisch stets in dem Condensationswasser der Agarröhrchen, auch in Bouillon stets als lange Ketten nachweisbar waren. Dazu kam, dass die aus menschlichen Erysipelen rein gezüchteten Streptokokken oft genug für sich allein weder am Kaninchenohr noch beim Menschen Erysipel hervorzurufen vermochten.

Es drängte sich mir daher der Gedanke auf, dass in jenen Fällen vielleicht die Mischinfection von Strepto- und Staphylokokken obligatorisch für die Erzeugung eines typischen Erysipels sein könnte. Dieser Gedanke giebt noch eine neue Perspective für Studien am menschlichen Erysipel, und die neuerdings auch von Lenhartz[4] aufgeworfene Frage,

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXIII. S. 142.

[2] *Ebenda.* Bd. XXVI. S. 476.

[3] Langenbeck's *Archiv.* Bd. XLII. S. 325. — Vgl. auch *diese Zeitschrift.* Bd. XVIII. S. 414.

[4] Lenhartz, *Das Erysipel.* Wien 1900.



ob der Streptococcus als der alleinige Erreger des menschlichen Erysipels zu betrachten sei, muss bis auf Weiteres als eine offene gelten. Im Thierversuch jedenfalls kann das Krankheitsbild des Ohrerysipels auch durch andere Mikroorganismen erzeugt werden, wofür gleichzeitig durch eine Arbeit Neufeld's[1] ein interessantes Beispiel geliefert wird.

Eine kurze Betrachtung möchte ich noch dem Typhus abdominalis widmen, zu dessen Beobachtung ich jetzt häufiger Gelegenheit habe als früher.

Die klinische Abgrenzung des Typhus abdominalis von anderen fieberhaften Allgemeinerkrankungen ist keine leichte. Bekanntlich bezeichnet „τὸ τύφος" in der ältesten Medicin nur das Krankheitsbild einer mit starker Benommenheit des Sensoriums verbundenen fieberhaften Allgemeinerkrankung. Aber wie ausserordentlich verschieden sind ätiologisch die Krankheitsgruppen, welche erst die neuere Medicin abgrenzen lernte: „Typhus exanthematicus", „Typhus recurrens" und „Typhus abdominalis". Jedem Arzte ist es bekannt, wie schwierig unter Umständen auch die Abgrenzung des letzteren von Miliartuberculose und Meningitis lediglich auf Grund des Krankheitsbildes sein kann. Es können verschiedene Infectionserreger auch hier Krankheitsbilder schaffen, die einander in der Gesammtheit ihrer Symptome ausserordentlich ähnlich sind. Wissenschaftlich sichergestellt wird die Diagnose erst durch den bakteriologischen Befund, der auf verschiedenen Wegen und bei sorgsamer Benutzung aller dieser Wege weit häufiger gewonnen werden kann, als dies am Krankenbett (auch in Kliniken und Krankenhäusern) in der Regel geschieht.[2] Aber in einem Theil der Fälle gelingt die bakteriologische Diagnose auf keinem der gangbaren Wege. Hiervon muss trotzdem wiederum ein Theil auf Grund der Uebereinstimmung aller klinischen Zeichen dem Typhus zugerechnet werden, während ein anderer Theil zwar als „typhusverdächtig", aber nicht mit Sicherheit als „Typhus" zu bezeichnen ist. Ob in diesen Fällen immer der Typhusbacillus der Krankheitserreger ist, oder ob auch andere Bakterien (z. B. menschenpathogene Coli-Stämme) diese „typhusverdächtigen" Krankheitsbilder zu erzeugen vermögen, dies zu entscheiden, wird weiteren Untersuchungen vorbehalten sein. Aus der Verwandtschaft des Krankheitsbildes a priori auf den Erreger Rückschlüsse zu machen, dürfte jedenfalls falsch sein. Bei echtem Typhus habe ich häufig die Ueberzeugung gewonnen, dass nicht eine

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI.

[2] Die Erfahrungen unseres Danziger Institutes über die bakteriologische Diagnose des Typhus sind in einer demnächst erscheinenden Dissertation von A. Burdach niedergelegt.



Reininfection mit dem Typhus-Bacillus vorliegt, sondern dass Secundärinfectionen gestaltgebend auf das Krankheitsbild mitwirken, und dass namentlich die „Schwere“ der Erkrankung sehr oft durch solche Secundärinfectionen bedingt ist. Bereits oben erwähnte ich einen Fall von Complication mit pneumonischer Infection durch Diplococcus catarrhalis. Nach der alten klinischen Nomenclatur hätte man hier von einem „Pneumotyphus“ gesprochen. In einem Falle von Nephrotyphus liess sich bei der Obduction als Erreger der schweren Nephritis ein Coli-Stamm nachweisen, welcher bereits während des Lebens milliardenweise durch den Urin ausgeschieden wurde. Die Massenausscheidung von Bacterien Coli durch den Urin Typhuskranker habe ich fast noch häufiger gesehen, als die Massenausscheidung des Typhusbacillus, während ich Ausscheidung von Strepto- oder anderen Kokken durch den Urin Typhuskranker noch niemals beobachten konnte. Diese Erfahrung spricht dafür, dass das Bacterium coli, welchem die Darmgeschwüre den Weg in die Gewebe öffnen, beim Typhus zuweilen die Rolle eines blossen Saprophyten mit der eines secundären Infectionserregers vertauscht. Namentlich scheint dies auch bei „Typhus-Recidiven“ der Fall zu sein, bei welchen der Charakter der Fiebercurve schon auf eine besondere Aetiologie deutet, die Diazoreaction fehlt und das Sensorium fast ganz frei ist. Den stricten Beweis für diese Auffassung zu bringen, ist allerdings schwer, da die Nichtauffindbarkeit des Typhusbacillus im Stuhl ebensowenig beweisend ist, wie die selbstverständlich reichliche Anwesenheit des Bacterium coli. Aber nahe genug liegt die Analogie des „Typhusrecidivs“ mit dem sogenannten „Cholera-Typhoid“. In beiden Fällen ist durch erhebliche Läsionen der Darmschleimhaut das Thor für secundäre Infectionen offen.

Zum Schluss sei auch des anscheinend so aparten Krankheitsbildes der Ruhr gedacht, bei welcher bereits jetzt nicht weniger als drei verschiedene Mikroorganismen um die Rolle des Erregers streiten, und vielleicht mit gleichem Rechte: Kartulis' Amoeben und die Bacillen von Shiga und Kruse. Nach den Anschauungen, die wir auf Grund des im Vorstehenden dargelegten Beobachtungsmaterials gewinnen müssen, ist es an sich keineswegs ausgeschlossen, dass das gleiche Krankheitsbild der Ruhr in verschiedenen Gegenden thatsächlich durch verschiedene Erreger bedingt sein kann! ja vielleicht ist mit den bisher beschriebenen die Zahl der Ruhrerreger noch nicht erschöpft.

Alle diese hier wiedergegebenen Beobachtungen zeigen, dass mit der Beschreibung und Benennung des Krankheitsbildes fast niemals die Diagnose einer Infectionskrankheit gelungen ist. Das Krankheitsbild verdankt seine Entstehung den gemischten Einflüssen des inficirten Gewebes einerseits und des Krankheitserregers andererseits. Die



klinische Untersuchung und selbst die Autopsie zeigt nur den veränderten Zustand der Gewebe; das, was die Infectionskrankheit aber zur „Infections"-Krankheit macht, der sie erzeugende Erreger, kann nur durch die bakteriologische Untersuchung gefunden werden. Es ist also der bakteriologische Befund stets unentbehrlich für die wissenschaftliche Diagnose einer Infectionskrankheit. Consequenterweise wäre es auch sehr wünschenswerth, wenn die ätiologische Nomenclatur der Infectionskrankheiten entsprechend dem Fortschreiten der ätiologischen Erkentniss weiter gebildet würde. Ansätze hierzu sind ja bereits gegeben in den Bezeichnungen „Anthracosis", „Streptotrichosis", „Actinomycosis" u. s. w. Typhus dagegen und Pneumonie sind rein klinische, Diphtherie und Tuberculosis rein anatomische Namen, welche zwar das Krankheitsbild oder den Zustand der Gewebe, aber nicht die Aetiologie bezeichnen. Die Besucher des Berliner Tuberculose-Congresses von 1899 werden sich wohl erinnern, dass Virchow gelegentlich seines Referates über Viehtuberculose wieder auf sein beliebtes philologisches Thema zu sprechen kam: „Tuberculum" bedeute nur das kleine Knötchen. Wo es sich um grosse Knoten (wie z. B. in der Regel bei „Perlsucht"), um Drüsenerkrankungen oder um „käsige Herde" handle, könne man von „Tuberculose" eigentlich nicht mehr sprechen. Nun ja, vom Standpunkt des Schulphilologen ist das zweifellos richtig, aber Virchow verkennt dabei die Umwerthung, welche der Begriff „Tuberculose" seit Koch's Entdeckung im Bewusstsein der Zeitgenossen erfahren hat. Es entstände ein fruchtloser Streit um Worte, wollte man den Begriff „Tuberculose" einerseits vom ätiologischen, andererseits vom philologischen Standpunkte aus definiren. Diesem fruchtlosen Streite geht man aus dem Wege, wenn man für den ätiologischen Begriff auch ein ätiologisches Wort schafft. Wie oft stellt, wo Begriffe fehlen, „ein Wort zur rechten Zeit sich ein"; warum soll es sich nicht auch einmal einstellen, wo Begriffe vorhanden sind?!

Für „Diphtherie" würde z. B. „Bacillosis faucium toxica (Löffler)" ein entsprechender ätiologischer Ausdruck sein. Es würde dann keinem Menschen mehr beifallen können, die „Darmdiphtherie" damit auf eine Stufe zu stellen, vielmehr müsste für letztere, je nach der Aetiologie, ein entsprechender ätiologischer Ausdruck ebenfalls gefunden werden. Für die ätiologische Benennung der Kokkenkrankheiten sind durch Tavel und andere, besonders französische Autoren bereits Vorgänge geschaffen; man sagt „Strepto- oder Staphylomycosis" statt des schwerfälligeren „Staphylococcosis". Meines Erachtens könnte man noch einfacher kürzen: „Staphylosis" und „Streptosis"; so z. B. „Staphylosis phlegmonosa" oder „suppurativa", „Streptosis progrediens" oder „migrans" (Erysipelas), „Strep-

tosis tonsillaris" (Angina), „Streptosis puerperalis", „Streptosis universalis septica" u. s. w. Von den wenigen Spirillen-Krankheiten kommen namentlich „Spirillosis recurrens (Obermeyer)" und statt „Cholera" „Spirillosis asiatica (Koch)" in Frage. Auch für den diffusen Ausdruck „Malaria" würde der richtigere wissenschaftliche Terminus „Plasmodiosis tertiana", — „quartana", — „tropica" sein. Für die Infection mit gröberen thierischen Parasiten giebt es schon die gebräuchlichen Ausdrücke „Trichinosis", „Helminthiasis", denen analog weitere gebildet werden können, und so wäre der Kreis der bisher ätiologisch festgelegten parasitären Krankheiten ziemlich geschlossen.

Dass neue Benennungen sich schwer und langsam einbürgern, ist mir nicht unbekannt, und doch glaube ich, dass das Bedürfniss allmählich dazu drängen wird. Die alten Namen werden natürlich überall da noch unentbehrlich sein, wo die ätiologische Klärung noch fehlt, und gerade das sollte eine wissenschaftlich werthvolle Scheidung zwischen den erforschten und den ätiologisch noch dunkeln Krankheiten markiren und ein steter Ansporn für das weitere Vorwärtsdringen der bakteriologischen Forschung sein.



[Aus dem hygienischen Institut der Universität Leipzig.]

Untersuchungen über Mundhygiene.

Von

Dr. med. **C. Röse.**

(Hierzu Taf. III—VIII.)

Systematische Untersuchungen über Zahn- und Mundhygiene sind bisher nur sehr vereinzelt angestellt worden. Ohne genaueste Kenntniss und sorgfältigste Berücksichtigung des besonderen anatomischen und pathologisch-anatomischen Baues der Mundhöhlenorgane lässt sich auf dem Gebiete nichts Erspriessliches leisten. Den Fachhygienikern liegen diese Dinge in der Regel zu fern. Andererseits sind unter den Zahnärzten nur sehr wenige hinreichend bakteriologisch geschult.

Meine eigenen bakteriologischen Untersuchungen über die Wirkung von Mundwässern haben vor etwa 2 Jahren unter Leitung des Hrn. Prof. **Emmerich** in München begonnen. Die Ergebnisse der Münchener Untersuchungen sind bereits in 2 Aufsätzen[1] veröffentlicht worden.

Die verflossenen 2 Semester habe ich dann dazu benutzt, um im hygienischen Institute zu **Leipzig** meine mundhygienischen Untersuchungen zu einem gewissen Abschlusse zu bringen. Hr. Geheimrath **Hofmann** brachte meinen Arbeiten von Anfang an ein sehr reges Interesse entgegen. Seine systematische Erziehung zu immer schärferer

[1] Röse, Die pflanzlichen Parasiten der Mundhöhle und ihre Bekämpfung. *Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie u. Physiologie in München.* 1899. Hft. 1. — Untersuchungen über Mundwässer *Oesterr.-ungarische Vierteljahrschrift für Zahnheilkunde.* 1899. Hft. 4.

Selbstkritik und seine unermüdliche, gedankenreiche Anregung haben wesentlich dazu beigetragen, den Gesichtskreis der vorliegenden Arbeit beträchtlich zu erweitern. Ferner bin ich Hrn. Privatdocenten Dr. Ficker verpflichtet, der die Zuverlässigkeit meiner Untersuchungsmethoden von Zeit zu Zeit nachgeprüft, und Hrn. Prof. Kockel, der die Photogramme zu den Abbildungen angefertigt hat.

Die Ansichten über Zweck und Ziel der Zahn- und Mundpflege waren bisher noch recht getheilt. Während in früherer Zeit die mechanische Reinigung beinahe ausschliesslich empfohlen wurde, begann in den letzten beiden Jahrzehnten, seit den grundlegenden Arbeiten Miller's über die Bedeutung der Spaltpilze für die Entstehung der Zahncaries, die Herrschaft der antiseptischen Mundwässer. Die Losung lautete: Vernichten wir die Spaltpilze der Mundhöhle, und die Zahncaries wird vom Erdboden verschwinden. Miller selbst hat zwar die engen Grenzen der ausschliesslichen Mundwasserwirkung recht bald erkannt und empfiehlt neuerdings ganz besonders warm den gleichzeitigen Gebrauch einer zweckmässigen Zahnbürste. Aber die zahlreichen Schüler des Meisters, besonders solche, die am wenigsten von Bakteriologie und Hygiene verstanden, haben die Wirkung der Mundwässer gar häufig überschätzt. Sie scheuten sich nicht, die schädlichsten Antiseptica als Mundwasser zum täglichen Gebrauche zu empfehlen. Noch heute giebt es Zahnärzte, die der irrigen Meinung sind, man könne mit den gebräuchlichen Mundwässern in einigen Minuten die Mundhöhle sterilisiren.

Schliesslich bemächtigte sich die Grossindustrie des neuen, lohnenden Artikels. Immer zahlreicher wurden die Handels-Mundwässer, von denen jedes immer besser sein will, als alle anderen zusammen.

Es lässt sich nun freilich nicht abstreiten, dass die aufdringliche Reklame für diese Mundkosmetica zahlreiche Leute überhaupt erst dazu angeregt hat, ihrer Mundhöhle eine gewisse Beachtung zu schenken. Vom Standpunkte des Mundhygienikers aus könnte man die ausgedehnte Mundwasserreklame nur auf's Wärmste begrüssen, — wenn die angepriesenen Mittel nur wenigstens in ihrer Mehrzahl unschädlich wären!

Der Umsatz an Mund- und Zahnpflegemitteln beläuft sich jährlich sicherlich auf mehrere Millionen Mark. Weitaus der grösste Theil, vielleicht $^3/_4$ dieser Summe, wird für Handelsartikel verausgabt. Der bequeme Gelehrtenstandpunkt, alle diese Mundwässer, Pasten, Seifen u. s. w. des Handels einfach als nicht vorhanden zu betrachten und von der Untersuchung gänzlich auszuschliessen, musste daher von vornherein aufgegeben werden. Freilich erweiterte sich durch Einbeziehung der Handelspräparate in den Kreis der Untersuchung der Umfang der Arbeit recht beträchtlich. Gerade die am meisten verbreiteten Handelsmundwässer mussten ganz

besonders gewissenhaft und wiederholt geprüft werden, damit jede Möglichkeit ausgeschlossen war, durch flüchtige Untersuchung und flüchtig abgegebenes Urtheil berechtigte Interessen zu verletzen.

Aus Sparsamkeitsgründen liess ich mir Anfangs die zu untersuchenden Handelspräparate von den betreffenden Fabriken kommen. Bei einem weitverbreiteten Mittel (Kosmin) stellte es sich indessen zufällig heraus, dass die von der Fabrik zugesandten Präparate durchaus nicht mit den entsprechenden Handelsproducten übereinstimmten. Seitdem wurden grundsätzlich nur solche Lösungen geprüft, die von mir selbst oder von befreundeten Collegen im Laden erworben worden waren. Die am meisten verbreiteten Mittel sind gleichzeitig aus mehreren Städten des In- und Auslandes bezogen worden, um sie auf die Gleichmässigkeit ihrer Wirkung hin untersuchen zu können.

Die Mundhöhle gleicht einer offen daliegenden Petrischale, auf deren Nährboden sich gelegentlich alle möglichen Spaltpilze einmal ansiedeln können. Abgesehen von den überall vorkommenden ungefährlichen Luftspaltpilzen, sind auch die meisten pathogenen Keime schon in der Mundhöhle von anscheinend gesunden Menschen hin und wieder beobachtet worden. Ausser dem Pneumococcus, dessen häufiges Vorhandensein schon Miller festgestellt hat, wird in der neueren Litteratur besonders das Vorkommen des Diphtheriebacillus in der Mundhöhle von gesunden Menschen und von Reconvalescenten immer häufiger erwähnt. In einer gesunden Mundhöhle mit straffer Schleimhaut finden die Krankheitserreger keinen günstigen Nährboden. Wohl aber können sie sich auf den Absonderungen der chronisch entzündeten, ödematös geschwellten Schleimhaut unbegrenzt vermehren. **Die Gesunderhaltung der Mundschleimhaut ist daher das beste Vorbeugemittel gegen die Weiterverbreitung zahlreicher Infectionskrankheiten.**

Alle urtheilsfähigen Beobachter stimmen darin überein, dass eine wirkliche Sterilisation der Mundhöhle völlig undurchführbar ist. Selbst mit einer Sublimatlösung von 1 : 500 gelang es mir nicht, die Mundhöhle keimfrei zu machen. In irgend einem Schlupfwinkel der Schleimhaut, in den Ausführungsgängen der Schleimdrüsen, in der Tiefe der Papillae circumvallatae, in den Krypten der Tonsillen bleiben lebensfähige Keime zurück, die auf einer krankhaft veränderten oder vom Desinficiens verätzten Schleimhaut immer wieder üppig empor wuchern.

Versuche, die darauf hinauslaufen, mit Hülfe von stark desinficirenden Mitteln alle Krankheitskeime in der Mundhöhle dauernd vernichten zu wollen, müssen von vornherein nicht nur als aussichtslos, sondern als geradezu schädlich bezeichnet werden. Jedes stärker wirkende Desinfectionsmittel ätzt die Schleimhaut und bringt sie bei öfterer



Anwendung zur chronischen Entzündung. Eine vernünftige Mundhygiene soll jedoch gerade umgekehrt in erster Linie darauf ausgehen, diese chronische Entzündung der Schleimhaut zu heben, um in der gesunden Schleimhaut einen ungünstigen Nährboden für die Krankheitskeime zu schaffen.

Auch für die Verhütung der Zahncaries ist die gesund erhaltene Mundschleimhaut eine conditio sine qua non. Die säurebildenden Spaltpilze wachsen vorzugsweise auf den zurückgebliebenen stärkemehlhaltigen Speiseresten. Auf mechanischem Wege, mit Hülfe von Zahnbürsten und Spülungen müssen diese Nährböden der Cariespilze möglichst gründlich entfernt werden. Wenn es nun aber schon bei völlig gesunder Schleimhaut sehr schwierig ist, die weichen, klebrigen Speisereste aus der Mundhöhle wegzuschaffen, so ist die gründliche mechanische Reinigung beim Vorhandensein eines krankhaft veränderten, leicht blutenden Zahnfleisches geradezu unmöglich.

Auf dem Gebiete der Zahn- und Mundhygiene ist bisher nicht genügend scharf unterschieden worden zwischen rein ärztlichen und hygienisch-prophylaktischen Maassnahmen, zwischen eigentlichen Heilmitteln einerseits und den zum täglichen Gebrauche dienenden hygienisch-kosmetischen Mitteln andererseits. Wenn der Arzt eine verschmutzte, entzündete, von pathogenen Spaltpilzen überwucherte Mundhöhle zur Behandlung erhält, dann ist er durchaus berechtigt, vorübergehend einmal die Hülfe stärkerer Antiseptica in Anspruch zu nehmen, um die Hauptmasse dieser Spaltpilze zu entfernen. Die vorübergehende Anwendung starker Lösungen von Alkohol, Wasserstoffsuperoxyd, ja selbst von Sublimat wirkt in solchen Fällen oft Wunder. Freilich muss der Arzt die Wirkungsweise seiner Mittel genau kennen. Wie die Peitsche das Pferd, so treiben diese starken Reizmittel die Schleimhaut zu erhöhter Thätigkeit an. Ein vernünftiger Rosselenker wird nie die Peitsche so weit missbrauchen, dass die Kräfte seines Thieres bis zur äussersten Grenze aufgezehrt werden. Ein Pferd ermüdet früher, das andere später; beim einen genügt ein leiser Anreiz, beim anderen sind stärkere Schläge erforderlich, um die gewünschte erhöhte Leistung zu erhalten. Ganz ebenso liegen die Verhältnisse bei der Mundschleimhaut. Ein Mensch verträgt wochen-, ja monatelang die Anwendung der schädlichsten Mundwässer ohne Schaden, beim anderen entzündet sich die Schleimhaut schon nach wenigen Tagen. Ein Arzt, der stark wirkende Aetzmittel zum Mundspülen verschreibt, muss daher individualisiren. Er muss seinen Patienten stets unter Aufsicht haben, damit er zur rechten Zeit eine Aenderung in der Medication eintreten lassen kann.

Im Gegensatze zu den nur unter ärztlicher Aufsicht zu gebrauchenden differenten Heilmitteln müssen die zur Gesunderhaltung der Mund-

organe dienenden, täglich anzuwendenden **hygienisch-kosmetischen Mundpflegemittel** in erster Linie **unschädlich** sein. Stoffe, die überhaupt schädlich wirken können, dürfen der Laienwelt nicht zur unterschiedslosen Anwendung in die Hand gegeben werden!

Wie ich bereits in einer früheren Arbeit ausgeführt habe, wird das übermässige Wachsthum der Mundspaltpilze durch die natürliche Kau-

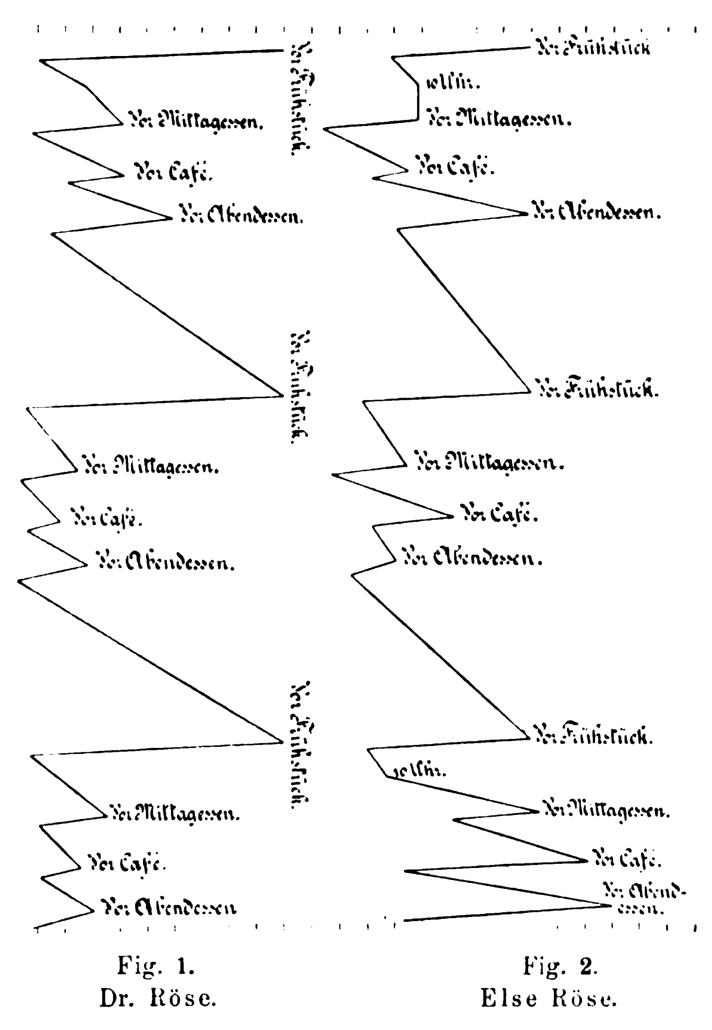


Fig. 1. Dr. Röse. Fig. 2. Else Röse.

Natürliche Zu- und Abnahme des Spaltpilzgehaltes der menschlichen Mundhöhle in Folge der Nahrungsaufnahme an drei auf einander folgenden Tagen.

thätigkeit in wirksamster Weise eingeschränkt. Je gesünder die Zähne, je kräftiger die Kaumuskeln sind, um so mehr Spaltpilze spült der betreffende Mensch gelegentlich der Nahrungsaufnahme in den Magen hinab, wo sie der Vernichtung anheimfallen. Am grössten ist der Keimgehalt der Mundhöhle frühmorgens, nach der Nachtruhe. Das erste Frühstück



vernichtet darum unter allen Mahlzeiten weitaus die grössten Massen von Mundpilzen.

In unseren Culturländern wird in Folge der fast überall üblichen, allzu weichen Nahrung in der Regel nicht kräftig genug gekaut. Die mangelhafte Kauthätigkeit bedingt in der Mundhöhle ein erhöhtes Bakterienwachsthum über die Norm hinaus. Diese durch unnatürliche Culturzustände bedingte übermässige Spaltpilzvermehrung müssen wir durch künstliche Mundpflegemittel zu bekämpfen suchen. Zu dem Zwecke stehen uns zwei Wege offen: 1. die mechanische Reinigung, 2. die chemische Reinigung mit Hülfe von unschädlichen und doch spaltpilzfeindlichen Spülwässern.

Die Einwirkung von Mundpflegemitteln auf die Verminderung der Mundspaltpilze.

Schon Miller hat sehr richtig erkannt, dass die üblichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden bei den Prüfungen von Mundpflegemitteln keine Verwendung finden können. Eine Mischung von Sublimat und Benzoësäure, die in einer Minute die Reincultur eines Streptococcus abtödtete, erforderte z. B. 5 Minuten, um eine gleich grosse Menge von Speichel zu desinficiren.

Miller giebt drei verschiedene Methoden an, mit deren Hülfe er den Einfluss der Mundwässer in der Mundhöhle selbst zu bestimmen suchte.

Methode I: Die Mundhöhle wird mit einem Antisepticum 10 Secunden lang ausgespült. Das mit Mundflüssigkeit durchmengte antiseptische Spülwasser fängt man in sterilen Gefässen auf und prüft nun, nach welcher Zeit Sterilisation eingetreten ist. Miller fand, dass von 26 Mitteln nur 5 (Jodtrichlorid, Salicylsäure, Saccharin, Benzoësäure, Sublimat) im Stande sind, im Zeitraume von 1 bis 5 Minuten die beigemengte Mundflüssigkeit zu sterilisiren.

Unaufmerksame Leser von Miller's Lehrbuche[1] haben aus den angeführten Versuchen häufig geschlossen, dass obige 5 Mittel im Stande seien, innerhalb weniger Minuten die Mundhöhle selbst zu sterilisiren. Davon kann gar keine Rede sein. Zur näheren Erläuterung möchte ich ein Beispiel anführen. Miller erzielte mit Benzoësäurelösung 1:300 in 2 bis 2½ Minuten eine Sterilisation der Spülflüssigkeit. In der Mundhöhle selbst aber tritt nach 2 minütigem Spülen mit derselben Lösung nur eine Herabsetzung der anfänglichen Keimzahl auf 33 Procent ein.

[1] Miller, *Die Mikroorganismen der Mundhöhle*. Leipzig 1892. 2. Aufl.

Selbst nach 8 Minuten lang fortgesetzter Spülung konnte ich in 2 Versuchen immer noch 10 Procent und 17 Procent des anfänglichen Spaltpilzgehaltes nachweisen.

Methode III von Miller sucht durch Thierversuche festzustellen, in wie weit gewisse pathogene Keime durch Mundwässer vernichtet werden können.

Wichtiger als die beiden erwähnten ist die Methode II Miller's. Die Mundhöhle wird 1 Minute lang mit dem zu untersuchenden Antisepticum ausgespült. $^1/_4$ Stunde später folgt eine zweite Spülung mit sterilem Wasser. Der Keimgehalt dieser zweiten Spülung wird durch Aussaat und Zählung bestimmt. Am nächstfolgenden Tage, zur selben Tageszeit wird der Controlversuch angestellt, indem schon zur ersten Spülung statt des Antisepticums reines Wasser verwendet und wiederum die Keimzahl des zweiten Spülwassers bestimmt wird. Aus dem Unterschiede in der Zahl der aufgegangenen Colonieen an beiden Tagen lässt sich die Wirkung des Antisepticums berechnen.

Auf Grundlage dieser zweiten Methode Miller's habe ich mir eine eigene (Miller-Röse'sche) Untersuchungsmethode herausgearbeitet, die sich als sehr zuverlässig erwiesen hat, die aber auch ganz besonders scharfe Anforderungen an die Ausdauer und Gewissenhaftigkeit der Versuchspersonen stellt.

Vor Allem kam es mir darauf an, auch die Dauerwirkung der Mundwässer zu bestimmen und nicht nur die augenblickliche Wirkung, $^1/_4$ Stunde nach der Spülung. Da die Pause zwischen den einzelnen Mahlzeiten in der Regel 4 Stunden beträgt, so habe ich diese Zeitdauer für meine Versuche gewählt. Der grösseren Sicherheit wegen sind ausser nach $^1/_4$ und nach 4 Stunden noch 2 weitere Controlspülungen $^1/_2$ und $2^1/_2$ Stunden nach der Spülung eingeschoben worden.

An zwei auf einander folgenden Tagen kann der Keimgehalt der Mundhöhle sehr beträchtlichen Schwankungen unterworfen sein. Ein kalter Trunk, die leichteste Erkältung, jeder heranziehende Schnupfen lässt die Zahl der Mundspaltpilze rasch anschwellen. Ausserdem hat es sich herausgestellt, dass ein und dasselbe Mundwasser bei verschiedenen Versuchspersonen sehr verschieden grosse Wirkung haben kann. Es ist darum nicht zulässig, aus dem Vergleiche von einer Mundwasserspülung mit einer Controlspülung bei einer Person bindende Schlüsse auf die Wirksamkeit eines bestimmten Mittels in der Mundhöhle überhaupt zu ziehen. Je grösser die Anzahl der Versuchspersonen, je zahlreicher die angestellten Spülserien, um so zuverlässiger sind die gefundenen Durchschnittswerthe. Ausser meiner Frau und mir selbst standen mir in München noch je zwei, in Leipzig noch eine dritte Versuchsperson zur Verfügung. Bei den Zahnbürsten-



versuchen, die eine ganz besondere Geschicklichkeit und Gleichartigkeit erfordern, habe ich nur meine Frau und mich selbst als Versuchspersonen benützt. In der Regel wurde jedes Mittel mindestens an zwei verschiedenen Tagen geprüft.

Während der ganzen Dauer der Untersuchung müssen die Versuchspersonen eine möglichst gleichmässige, reizlose Lebensweise innehalten. Uebermässig gewürzte, saure Speisen und zu kalte Getränke sind zu vermeiden. Der Genuss von Alkohol und Tabak ist nur in mässigen Grenzen gestattet. Während der 4 stündigen Versuchsdauer selbst muss vollkommenes Schweigen gewahrt, es darf weder gegessen noch getrunken, noch geraucht, noch gespuckt, noch geräuspert werden. Wenn sich in Folge eines starken Katarrhs öfteres Niessen oder Husten nicht vermeiden lässt, dann soll man die Versuche bis zum Verschwinden des Katarrhs unterbrechen.

Selbstverständlich müssen die Versuchspersonen völlig gesunde oder tadellos gefüllte Zähne (ohne Ansatz von Zahnstein) und möglichst gesunde, gut gepflegte Mundschleimhaut besitzen.

Genau zur gleichen Tageszeit geniessen die Versuchspersonen täglich genau die gleiche Menge von Nahrungsmitteln zum Frühstücke. Genau zu ein und derselben Zeit nach dem Frühstücke beginnen die Versuche.

Da der Bakterienreichthum der Mundhöhle, wie bereits erwähnt, trotz gleichmässigster Lebensweise an verschiedenen Tagen sehr verschieden gross sein kann, so ist es nicht möglich, die absolute Ziffer der Mundwasserwirkung direct zu bestimmen. Wir erhalten zunächst nur Vergleichszahlen, aus denen sich erst durch Umrechnung die absoluten Werthe feststellen lassen.

Die wirkliche Menge der im Munde vorhandenen Spaltpilze können wir überhaupt nicht zahlenmässig feststellen. Zunächst wachsen sehr viele dieser Keime überhaupt nicht auf künstlichen Nährböden. Ausserdem wird bei jedem Spülakte immer nur ein kleiner Bruchtheil der gesammten Bakterienmenge aus der Mundhöhle entfernt. Es ist daher durchaus erforderlich, stets möglichst gleichmässig zu spülen, damit jedes Mal ein ungefähr gleich grosser Bruchtheil der gesammten Spaltpilzmenge vom Spülwasser aufgenommen wird. Anfänger müssen sich mindestens erst 8 bis 14 Tage lang im gleichmässigen Spülen üben, ehe sie als Versuchspersonen brauchbar sind. An jedem Versuchstage wird zunächst die normaler Weise vorhandene Bakterienzahl bestimmt. Zu diesen Controlspülungen ist durchgehends die zuerst von Ficker angegebene, für Spaltpilze völlige indifferente sterile Kochsalzpeptonlösung in blutwarmem Zustande benutzt worden (Pepton Witte 1.0, Kochsalz 5·0, Aqua destillata 1000·0). 1 Minute lang spült man mit einem beliebig grossen



Schlucke dieser Lösung und fängt die Spülflüssigkeit in sterilen Gläsern auf. Mit sterilen Pipetten entnimmt man davon $^1/_{10}$ ccm, lässt die wenigen Tropfen in ein Röhrchen mit flüssiger Agargelatine laufen, mischt kräftig und giesst in Petrischalen. Die Menge der Spülflüssigkeit wird jedes Mal gemessen und aufgeschrieben.

Die Zählung der aufgegangenen Colonieen geschieht mit Hülfe des Mikroskopes. Am besten benutzt man eine Linsencombination, deren objectives Sehfeld 2 mm beträgt, z. B. Zeiss A Ocular 2 oder Seibert, Objectiv II, Ocular 2. Der Flächenraum einer Petrischale von 9 cm Durchmesser umfasst dann genau 2000 Gesichtsfelder. Da ich besonders ausgesuchte Petrischalen von gleichem Durchmesser und mit möglichst ebenem Boden benutzte, so genügte in der Regel die Abzählung von 6 Gesichtsfeldern (je 2 in der Mitte und 4 am Rande), um daraus zuverlässige Mittelwerthe zu berechnen. Durch ein Fadenkreuz oder ein in kleine Quadrate getheiltes Ocular wird die Zählung sehr erleichtert. Befinden sich z. B. in einem Gesichtsfelde durchschnittlich 100 Colonieen und die Spülflüssigkeit betrug 40 ccm, dann enthält $^1/_{10}$ ccm des Spülwassers, welche Menge in die Petrischale ausgegossen wurde, 200 000 Keime (100×2000) und die gesammte Spülflüssigkeit 80 Mill. ($200000 \times 10 \times 40$).

Nach Beendigung der ersten Controlspülung folgt sofort, wiederum 1 Minute andauernd, die Spülung mit dem zu prüfenden Mundwasser. Nach Ablauf von $^1/_4$, $^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden schliessen sich vier weitere Controlspülungen mit Kochsalzpeptonlösung an. Durch Vergleich der vier letzten mit der ersten Controlspülung erhält man den zahlenmässigen Nachweis von der Wirksamkeit des jeweiligen Mundwassers an dem betreffenden Tage.

Um die Gesammtwirkung in einer einzigen Zahl ausdrücken zu können, verfahre ich in der Weise, dass der Bakteriengehalt des ungeputzten Mundes im Anfange der Versuchsreihe = 100 gesetzt und danach der Keimgehalt $^1/_4$, $^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden nach Einwirkung des Antisepticums in entsprechende Procente umgerechnet wird. Aus den vier letzteren Procentzahlen wird ein einziger Mittelwerth berechnet. Normaler Weise steigt die Bakterienzahl nach jedem Essen wieder in die Höhe. Der Grad dieses Ansteigens ist bei den verschiedenen Versuchspersonen sehr verschieden. Es muss darum für jede Combination von mehreren Versuchspersonen durch zahlreiche Controlspülserien ohne antiseptisches Mundwasser, nur mit Kochsalzpeptonlösung, jedes Mal erst der Mittelwerth der normalen Bakteriencurve bestimmt werden. Je kleiner nach dem Gebrauche eines Mundwassers die Mittelzahl gegenüber der Mittelzahl bei Kochsalzpeptonlösung ist, um so besser hat das Antisepticum gewirkt.



Tabelle I. **Kochs**

Versuchsperson	Datum des Versuches	Anzahl der in je einem Spülwasser enthaltenen züchtbaren Spaltpilze: anfängliche Control-spülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stund.	na[ch] 4 St[unden]
Dr. **Röse**	6. Decbr. 1899	115000000	134000000	140000000	233000000	37
„	7. „ „	60000000	62000000	68000000	204000000	240
„	8. „ „	67000000	52000000	57000000	122000000	253
„	9. „ „	59000000	66000000	68000000	178000000	147
„	18. „ „	54000000	80000000	120000000	228000000	280
„	23. Januar 1900	103000000	93000000	157000000	344000000	308
„	19. Mai „	78000000	57000000	58000000	194000000	194
„	25. „ „	38000000	29000000	46000000	149000000	195
„	7. Juni „	37000000	37000000	29000000	66000000	172
„	23. Juli „	54000000	43000000	20000000	304000000	340
Frau **Else Röse**	6. Decbr. 1899	34000000	19000000	31000000	77000000	67
„	7. „ „	38000000	29000000	20000000	41000000	56
„	8. „ „	50000000	18000000	20000000	50000000	90
„	9. „ „	69000000	33000000	40000000	102000000	81
„	18. „ „	36000000	23000000	35000000	67000000	73
„	23. Januar 1900	34000000	12000000	29000000	61000000	73
„	19. Mai „	10000000	10000000	17000000	17000000	27
„	25. „ „	37000000	46000000	24000000	44000000	42
„	7. Juni „	26000000	10000000	12000000	39000000	43
„	23. Juli „	23000000	16500000	15000000	69000000	70
Zöllner	6. Decbr. 1899	48000000	43000000	68000000	92000000	72
„	7. „ „	53000000	51000000	65000000	111000000	59
„	8. „ „	34000000	31000000	22000000	98000000	94
„	9. „ „	58000000	69000000	64000000	120000000	80
„	18. „ „	22000000	38000000	48000000	119000000	75
„	23. Januar 1900	53000000	31000000	81000000	98000000	161
„	19. Mai „	26000000	34000000	28000000	35000000	44
„	25. „ „	50000000	39000000	18000000	48000000	42
„	7. Juni „	27000000	18000000	15000000	48000000	70
„	23. Juli „	49000000	54000000	63000000	44000000	52

Durchschnitt der 30 Vers[uche]

1:300 **Benz**

Versuchsperson	Datum des Versuches	anfängliche Control-spülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stund.	na[ch] 4 St[unden]
Dr. **Röse**	26. Januar 1900	93000000	41000000	34000000	111000000	247
„	31. „ „	120000000	56000000	59000000	173000000	299
Frau **Else Röse**	26. „ „	17000000	31000000	17000000	45000000	56
„	31. „ „	51000000	28000000	21000000	42000000	53
Zöllner	26. „ „	43000000	32000000	36000000	92000000	81
„	31. „ „	36000000	46000000	47000000	74000000	50

Durchschnitt der 6 Vers[uche]

5 procentiges **Eau**

Versuchsperson	Datum des Versuches	anfängliche Control-spülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stund.	na[ch] 4 St[unden]
Dr. **Röse**	29. Juni 1900	177000000	101000000	127000000	286000000	315
„	2. Juli „	236000000	66000000	88000000	123000000	339
Frau **Else Röse**	29. Juni „	38000000	16000000	40000000	112000000	121
„	2. Juli „	37000000	13000000	17000000	87000000	144
Zöllner	29. Juni „	21000000	25000000	27000000	94000000	92
„	2. Juli „	14000000	15300000	30000000	61000000	74

Durchschnitt der 6 Versu[che]



…onlösung 40° C.

…ngliche …ntrol- …ilung	Procentverhältniss der Spaltpilze in der Versuchsreihe: nach ¼ Stunde	nach ½ Stunde	nach 2½ Stunden	nach 4 Stunden	Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen
100	117	122	202	324	191
100	103	113	340	400	239
100	77	85	182	378	181
100	112	115	301	250	194
100	148	222	422	519	328
100	90	152	334	300	219
100	73	75	250	250	162
100	76	121	392	513	275
100	100	79	178	465	205
100	80	37	563	629	327
100	56	91	226	191	141
100	76	53	108	148	96
100	36	40	100	180	89
100	48	58	147	118	93
100	64	97	188	203	138
100	35	85	180	215	129
100	100	170	170	270	177
100	124	65	119	114	106
100	38	46	150	166	100
100	72	65	300	304	185
100	90	141	191	150	143
100	96	122	209	111	134
100	91	65	288	277	180
100	119	110	207	138	143
100	173	218	541	341	318
100	59	153	185	304	175
100	131	108	134	169	136
100	78	36	96	84	74
100	67	56	178	259	140
100	110	128	89	106	108
100	88	101	232	263	**171**

…re 10° C.

…ngliche …ntrol- …ilung	nach ¼ Stunde	nach ½ Stunde	nach 2½ Stunden	nach 4 Stunden	Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen
100	44	36	119	265	116
100	47	49	144	250	122
100	182	100	265	330	219
100	55	41	82	104	71
100	74	84	214	189	140
100	126	130	206	140	151
100	88	73	171	213	**136**

…. Pierre 16° C.

…ngliche …ntrol- …ilung	nach ¼ Stunde	nach ½ Stunde	nach 2½ Stunden	nach 4 Stunden	Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen
100	59	72	162	178	118
100	28	38	52	143	65
100	42	105	295	318	190
100	35	46	235	389	176
100	119	129	448	438	283
100	109	214	436	528	322
100	65	102	271	332	**192**

Es liegt auf der Hand, dass auch bei denselben Versuchspersonen die normale Bakteriencurve verschieden sein muss, je nachdem Vormittags oder Nachmittags, unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme, oder erst einige Zeit danach die Versuchsreihe begonnen wird. In einer Tabelle können daher immer nur diejenigen Versuchsreihen zusammengestellt und mit einander verglichen werden, die von denselben Versuchspersonen zu genau derselben Tageszeit angestellt worden sind.

Um aus den Vergleichszahlen absolute Werthe für die Wirkung der verschiedenen Spülwässer zu erhalten, setzt man in jeder Tabelle den darin enthaltenen Durchschnittswerth beim Spülen mit Kochsalzpeptonlösung = 100 und rechnet danach die entsprechenden Durchschnittswerthe, die sich nach der Anwendung von Mundwässern ergeben, in Procentzahlen um.

Als Beispiel dafür, in welchen Grenzen die Bakterienmenge des Spülwassers normaler Weise schwanken kann, habe ich die in Leipzig angestellten 30 Controlspülungen mit Kochsalzpeptonlösung, ferner die entsprechenden 6 Spülungen mit 1:300 Benzoësäure von 10° C. und mit 5 Procent Eau du Dr. Pierre einzeln aufgeführt.

Damit die spaltpilzschädigende Wirkung der Benzoësäurelösung, die sie innerhalb der ganzen 4 stündigen Versuchsdauer entfaltet, in einer einzigen absoluten Zahl ausgedrückt werden kann, setze ich die Durchschnittsziffer 171 der 30 Controlspülungen = 100 Procent und rechne danach die Durchschnittsziffer 136 der Benzoësäure in Procente um (= 79 Procent). Das heisst also: Benzoësäure hat gegenüber der Norm 21 Procent der Spaltpilze abgetödtet oder am Wachsthume verhindert.

An den Zahlen der Tabelle I ersieht man zugleich, wie wichtig es ist, die Dauerwirkung der Mundantiseptica zu berücksichtigen. Wären nur $^1/_4$ Stunde nach der Spülung die Keime gezählt worden, dann würde ich zu dem Trugschlusse gekommen sein, dass die kalte Benzoësäure überhaupt keine baktericide Wirkung habe. Ihre nicht unbeträchtliche Dauerwirkung tritt erst bei den folgenden Spülungen nach $^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden zu Tage. Umgekehrt hat 5 procentiges Eau du Dr. Pierre eine ganz leidliche Anfangswirkung, dagegen gar keine Dauerwirkung. Im Gegentheile, dieses Mittel verursacht in Folge seiner Reizwirkung späterhin gegenüber der Norm sogar eine wesentliche erhöhte Spaltpilzwucherung. Die Gesammtwirkung liegt unter 0 und muss mit einer negativen Ziffer (—12) ausgedrückt werden. Das heisst, 5 procentiges Eau du Dr. Pierre befördert sogar im Laufe der nächsten 4 Stunden das Bakterienwachsthum in der Mundhöhle nicht unwesentlich, anstatt es zu vermindern!

Die oben aufgestellte Forderung, dass während der ganzen 4 stündigen Versuchsdauer nicht gesprochen werden darf, wird vielleicht manchem



Leser zu weitgehend erscheinen. Und doch ist das nicht der Fall. **Lebhaftes Sprechen ist im Stande, den Spaltpilzgehalt der Mundhöhle beträchtlich zu vermindern.** Geheimrath Hofmann hat diese Ansicht schon seit vielen Jahren in seiner Vorlesung erwähnt, und sie lässt sich leicht beweisen:

An vier verschiedenen Nachmittagen wurde sofort nach dem Mittagessen gespült und nach 3stündigem vollkommnem Schweigen wiederum. Die Spaltpilzmenge im Spülwasser steigerte sich durchschnittlich bei:

Dr. Röse.	Frau Else Röse.
von 53000000 auf 288000000	von 28000000 auf 110000000
oder von 100 Proc. auf 543 Proc.	oder von 100 Proc. auf 393 Proc.

An vier weiteren Nachmittagen wurden die Versuche in derselben Weise wiederholt, nur mit dem Unterschiede, dass wir in der letzten halben Stunde laut lasen oder zählten. Es ergaben sich folgende durchschnittliche Steigerungen:

Dr. Röse.	Frau Else Röse.
von 63000000 auf 103000000	von 25000000 auf 49000000
oder von 100 Proc. auf 164 Proc.	100 Procent : 196 Procent

Die Steigerung bei den Versuchen ohne und mit Sprechen verhielt sich bei

Dr. Röse	Frau Else Röse
wie 100:30	wie 100:48

d. h. es wurden während des $^1/_2$ stündigen lauten Sprechens bei mir selbst 70 Procent, bei meiner Frau 52 Procent der sonst vorhandenen Mundspaltpilze mit dem Speichel in den Magen hinabgespült.

Obwohl bei den vorliegenden Versuchen alle Fehlerquellen so weit wie möglich auf's sorgfältigste ausgeschlossen worden sind, so bleibt doch der Umstand zu berücksichtigen, dass dasselbe Mittel bei verschiedenen Personen sehr verschiedenartig wirken kann. Es fragte sich daher, ob die in meinen Tabellen angegebenen Endergebnisse als einigermaassen zuverlässige Mittelwerthe Anspruch auf Allgemeingültigkeit haben dürften. Um diese Frage beantworten zu können, habe ich einige Mittel 2 Mal, eines sogar 3 Mal in den drei verschiedenen Versuchsperioden geprüft. 5 procentiges Odol von 16° C. ist von 6 Versuchspersonen in drei verschiedenen Zusammenstellungen geprüft worden und ergab folgende Procentsätze von vernichteten Spaltpilzen:

A = I. Münchener Versuchsreihe (Versuchspersonen 1, 2, 3, 4) = 35 Proc.
B = II. „ „ („ 1, 2, 3, 5) = 36 „
C = I. Leipziger „ („ 1, 2, 6) = 35 „



Diese auffällige Uebereinstimmung ist wohl dem Umstande zuzuschreiben, dass das Mittel in allen drei Versuchsreihen sehr häufig (20 Mal, 16 Mal und 12 Mal) geprüft wurde, und dass seine Zusammensetzung stets die gleiche ist.

Aber auch bei den weniger häufig und nur in je zwei verschiedenen Versuchsreihen geprüften Mitteln zeigt sich immer noch eine sehr erfreuliche Uebereinstimmung der Endergebnisse:

10 Proc. Miller's Benzoësäure-Mundwasser von 16° C.	$A = 31$ Proc.	$B = 28$ Proc.
Physiologische Kochsalzlösung von 40° C.	$A = 28$ „	$C = 23$ „
1:1000 Kali hypermangan. von 16° C.	$B = 72$ „	$C = 62$ „
40 Proc. Alkohol von 16° C.	$A = 72$ „	$B = 58$ „
5 „ Kosmin von 16° C.	$A = -3$ Proc.	$C = -14$ Proc.
2 „ „ „ 16° C.	$A = -7$ „	$C = -30$ „
2 „ Eau de Botot von 16° C.	$A = -2$ „	$C = -21$ „

In den beiden Tabellen II und III führe ich der Vollständigkeit halber die bei den Münchener Versuchen gewonnenen Resultate nochmals an. Tabelle IV zeigt die Ergebnisse der I. Leipziger Versuchsreihe.

Bei den früheren Untersuchungen hatten alle geprüften Mittel mit Ausnahme von physiologischer Kochsalzlösung ungefähr Zimmertemperatur von 16° C. In Leipzig habe ich mehrere Mittel bei verschiedenen Temperaturgraden geprüft, und zwar in der Regel einerseits bei Zimmertemperatur (16° C.), andererseits bei Bluttemperatur (37 bis 40° C.) Es bestätigte sich die Vermuthung, dass die meisten Mittel bei 40° C. wesentlich besser wirkten, als in kaltem Zustande. Es ist ja allgemein bekannt, dass die keimvernichtende Kraft der Antiseptica mit zunehmender Temperatur in der Regel steigt. In der Mundhöhle kommt aber noch ein anderer Umstand in Betracht: Die Kälte der Spülwasser ruft eine venöse Blutstauung in der Mundschleimhaut hervor, und dadurch wird die Spaltpilzvermehrung wesentlich begünstigt.

Physiologische Kochsalzlösung, die bei 40° C. 23 bis 28 Procent der Mundspaltpilze vernichtet, bewirkt bei 10° C. sogar eine kleine Vermehrung der Mundkeime (— 4 Procent). Zu kalte Spülwässer sind nicht allein weniger nützlich, sondern sie sind geradezu schädlich! Man soll daher die Mundwässer wenn irgend möglich in lauwarmem, mindestens jedoch in überschlagenem Zustande anwenden. Von verschiedenen Seiten ist mir gegenüber gesprächsweise der Einwand



Tabelle II.

Anzahl der Spülserien	Spülwasser	Procentverhältniss der Colonieen in der Versuchsreihe					Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen	Procentsatz der durch die Mundwässer abgetödteten oder am Wachsthum verhind. Spaltpilze
		anfängliche Controlspülung	nach $^1/_4$ Stunde	nach $^1/_2$ Stunde	nach $2^1/_2$ Stdn.	nach 4 Stdn.		
24	Kochsalzpeptonlösung (blutwarm)	100	95	117	347	398	239 (100 %)	0 %
4	Miller's Sublimat-Benzoësäure 10 Proc.	100	9	12	8	28	14 (6 „)	94 „
4	Miller's Sublimat-Benzoësäure 5 „	100	25	21	23	32	25 (10 „)	90 „
4	Salicylsäure 1 : 300 (blutwarm)	100	23	11	72	115	55 (23 „)	77 „
4	Miller's Saccharin-Benzoësäure 10 Proc.	100	62	67	211	217	139 (58 „)	42 „
8	Miller's Benzoës.-Ratanh. 10 Proc. (frisch)	100	61	81	237	285	166 (69 „)	31 „
4	Dasselbe mehrere Monate abgestanden	100	77	98	400	669	311 (130 „)	— 30 %
12	Dasselbe 5 Proc. (frisch)	100	129	107	334	397	242 (101 „)	— 1 „
12	Dasselbe 2 Proc. (frisch)	100	115	157	345	472	272 (114 „)	— 14 „
8	Miller's Benzoës.-Thymol 10 Proc. (frisch)	100	68	82	231	249	158 (66 „)	34 „
7	Dasselbe 5 Proc. (frisch)	100	93	101	249	393	209 (87 „)	13 „
8	Dasselbe 2 Proc. (frisch)	100	113	128	487	510	309 (129 „)	— 29 „
8	Odol 10 Proc.	100	53	68	203	289	153 (64 „)	36 „
8	Odolantisepticum 1 : 330	100	70	84	205	219	145 (61 „)	39 „
8	Salol 1 : 330	100	113	109	228	342	198 (83 „)	17 „
20	Odol 5 Proc.	100	77	78	205	259	155 (65 „)	35 „
16	Odolantisepticum 1 : 660	100	72	78	221	260	158 (66 „)	34 „
8	Salol 1 : 660	100	113	115	444	383	264 (110 „)	— 10 „
8	Odol 2 Proc.	100	67	83	304	242	174 (73 „)	27 „
12	Odol 1 Proc.	100	104	102	274	324	201 (84 „)	16 „
4	Eau de Botot 5 Proc.	100	109	106	233	388	209 (87 „)	13 „
4	Eau de Botot 2 Proc.	100	121	141	341	369	243 (102 „)	— 2 „
8	$^1/_2$ Proc. Formalin	100	31	43	109	193	94 (40 „)	60 „
8	Kosmin 10 Proc. (aus dem Laden)	100	102	99	299	307	202 (84 „)	16 „
12	Kosmin 10 Proc. (aus der Fabrik)	100	47	60	170	236	128 (54 „)	46 „
16	Kosmin 5 Proc. (aus dem Laden)	100	107	111	321	444	245 (103 „)	— 3 „
4	Kosmin 5 Proc. (aus der Fabrik)	100	76	96	277	300	187 (78 „)	22 „
8	Kosmin 2 Proc. (aus dem Laden)	100	138	142	354	391	256 (107 „)	— 7 „
8	Kosmin 2 Proc. (aus der Fabrik)	100	100	106	294	299	200 (84 „)	16 „
8	Physiologische Kochsalzlösung (blutwarm)	100	78	79	318	218	173 (72 „)	28 „
10	Alkohol 40 Proc. (Gew.)	100	16	20	91	142	67 (28 „)	72 „

Tabelle III.

Anzahl der Spülserien	Spülwasser	Procentverhältniss der Colonieen in der Versuchsreihe					Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen	Procentsatz der durch die Mundwässer abgetödteten oder am Wachsthum verhind. Spaltpilze
		anfängliche Controlspülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stdn.	nach 4 Stdn.		
42	Kochsalzpeptonlösung (blutwarm)	100	113	140	402	462	279 (100 %)	0 Procent
4	1:500 Sublimat	100	2	1	2	5	2 1/2 (1 „)	99 „
8	60 Proc. Alkohol	100	11	12	55	89	42 (15 „)	85 „
16	50 „ „	100	14	14	72	150	62 (22 „)	78 „
8	70 „ „	100	10	15	95	152	68 (25 „)	75 „
16	40 „ „	100	27	32	149	260	117 (42 „)	58 „
20	30 „ „	100	46	57	230	359	173 (62 „)	38 „
16	20 „ „	100	78	78	287	403	211 (76 „)	24 „
16	10 „ „	100	115	135	316	368	234 (84 „)	16 „
8	10 „ Miller's Benzoësäure-Ratanhia	100	109	119	277	293	200 (72 „)	28 „
16	Dasselbe in blutw. physiol. Kochsalzlösg.	100	53	53	176	276	139 (50 „)	50 „
16	5 Proc. Odol	100	103	115	242	253	178 (64 „)	36 „
16	Dasselbe in blutw. physiol. Kochsalzlösg.	100	48	57	160	201	117 (42 „)	58 „
8	Kamillenthee (5 Kamillen auf 100 Wasser)	100	128	160	278	349	229 (82 „)	18 „
8	1:300 Oleum Menthae (Mitcham)	100	89	127	307	379	226 (81 „)	19 „
8	1:1200 Oleum Menthae (Mitcham)	100	154	161	345	446	276 (99 „)	1 „
16	1:300 Nelkenöl	100	90	116	352	365	231 (83 „)	17 „
8	10 Proc. Wasserstoffsuperoxyd	100	41	33	109	138	80 (29 „)	71 „
8	5 Proc. Wasserstoffsuperoxyd	100	64	69	207	317	164 (59 „)	41 „
8	1:1000 Kalium hypermanganicum	100	42	54	93	123	78 (28 „)	72 „
8	1:2500 „ „	100	80	60	119	190	112 (40 „)	60 „
8	1:5000 „ „	100	104	79	179	195	189 (50 „)	50 „
8	1:10 000 „ „	100	113	124	211	354	201 (72 „)	28 „
16	4 Proc. Kalium chloricum	100	70	82	243	356	188 (68 „)	32 „
8	2 „ „ „	100	98	160	349	419	257 (92 „)	8 „

Tabelle IV.

Anzahl der Spülserien	Spülwasser	Procentverhältniss der Colonieen in der Versuchsreihe					Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen	Procentsatz der durch die Mundwässer abgetödteten oder am Wachsthum verhind. Spaltpilze
		anfängliche Controlspülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stdn.	nach 4 Stdn.		
30	Kochsalzpeptonlösung. 40° C.	100	88	101	232	263	171 (100 %)	0 %
21	Physiologische Kochsalzlösung 40° C.	100	68	68	181	216	133 (77 „)	23 „
9	Physiologische Kochsalzlösung 10° C.	100	74	74	274	294	178 (104 „)	— 4 %
9	5 Proc. Odol 40° C.	100	25	31	95	145	74 (43 „)	57 „
12	5 „ „ 16° C.	100	49	57	156	184	111 (65 „)	35 „
9	5 „ „ 10° C.	100	53	61	142	169	106 (62 „)	38 „
6	2 „ „ 40° C.	100	32	40	117	188	94 (55 „)	45 „
6	1 : 300 Benzoësäure 40° C.	100	40	39	125	272	119 (69 „)	31 „
6	1 : 300 Benzoësäure 10° C.	100	88	73	171	213	136 (79 „)	21 „
6	1 : 60 Perubalsam 16° C.	100	74	82	111	170	109 (64 „)	36 „
6	1 : 300 Perubalsam 16° C.	100	63	87	187	318	163 (95 „)	5 „
6	1 : 100 Ammonium carbonicum 40° C	100	86	85	154	212	134 (78 „)	22 „
9	2 : 100 Natron bicarbonicum 40° C.	100	75	67	193	219	138 (81 „)	19 „
6	2 : 100 Natron bicarbonicum 20° C.	100	63	76	227	288	163 (95 „)	5 „
6	10 Proc. Eucalyptustinctur 16° C.	100	31	31	133	200	99 (58 „)	42 „
3	5 Proc. Eucalyptustinctur 16° C.	100	110	66	315	282	168 (98 „)	2 „
6	4 Proc. Borax 16° C.	100	70	67	151	232	130 (76 „)	24 „
6	2 Proc. Borsäure 16° C.	100	73	73	212	306	166 (97 „)	3 „
9	1 : 1000 Kalium hypermanganicum 16° C.	100	34	31	86	108	65 (38 „)	62 „
6	1 Proc. Sapo medic. in Aqua dest. 16° C.	100	10	17	116	138	70 (42 „)	58 „
6	1 Proc. Sapo med. in Leitungswasser 16° C.	100	49	83	183	196	128 (75 „)	25 „
6	5 Proc. Kosmodont (Seifenspiritus) 16° C.	100	62	100	171	195	132 (77 „)	23 „
6	2 Proc. Kosmodont („) 16° C.	100	75	70	133	317	149 (87 „)	13 „



Tabelle IV. (Fortsetzung.)

Anzahl der Spülserien	Spülwasser	Procentverhältniss der Colonieen in der Versuchsreihe					Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen	Procentsatz der durch die Mundwässer abgetödteten oder am Wachsthum verhind. Spaltpilze
		anfängliche Control-spülung	nach 1/4 Stunde	nach 1/2 Stunde	nach 2 1/2 Stdn.	nach 4 Stdn.		
6	1:1100 Thymol 40° C.	100	67	48	143	166	106 (62 %)	38 %
6	1:2000 Thymol 40° C.	100	73	85	232	287	169 (99 „)	1 „
12	1:2000 Thymol 16° C.	100	81	87	227	277	168 (99 „)	1 „
12	5 Proc. Osan 16° C.	100	74	82	213	302	168 (98 „)	2 „
6	2 Proc. Osan 16° C.	100	99	82	274	330	196 (114 „)	— 14 %
6	5 Proc. Waldheimer Chinosolmundwasser 16° C. (Chinosol 1:1000)	100	72	61	214	304	163 (95 „)	5 „
6	1:200 Acid. tannicum 16° C.	100	107	102	187	297	173 (101 „)	— 1 %
6	10 Proc. Myrrhentinctur 16° C.	100	83	66	253	295	174 (102 „)	— 2 „
9	10 „ Ratanhatinctur 16° C.	100	86	114	231	274	176 (103 „)	— 3 „
3	10 „ Kinotinctur 16° C.	100	113	115	254	375	214 (125 „)	— 25 „
12	5 „ Lohse's Mundwasser 16° C.	100	78	86	237	301	176 (103 „)	— 3 „
6	2 „ Lohse's Mundwasser 16° C.	100	79	105	278	332	198 (116 „)	— 16 „
6	5 „ Illodin 16° C.	100	79	72	227	330	177 (103 „)	— 3 „
6	2 „ Illodin 16° C.	100	83	83	335	360	215 (126 „)	— 26 „
6	5 „ Eau du Dr. Pierre 16° C.	100	65	102	271	332	192 (112 „)	— 12 „
6	2 „ Eau de Botot 16° C.	100	94	79	312	345	207 (121 „)	— 21 „
15	5 „ Kosmin 16° C.	100	70	86	294	331	195 (114 „)	— 14 „
18	2 „ Kosmin 16° C.	100	84	106	316	381	222 (130 „)	— 30 „
9	5 „ Odonta 16° C.	100	105	105	278	346	208 (121 „)	— 21 „
6	2 „ Odonta 16° C.	100	78	117	290	421	226 (132 „)	— 32 „
9	5 „ Agatol 16° C.	100	94	79	389	361	231 (135 „)	— 35 „
6	2 „ Agatol 16° C.	100	86	97	280	462	231 (135 „)	— 35 „



erhoben worden, dass lauwarme Spülwässer im Stande seien, die Mundschleimhaut zu „erschlaffen". Diese Beobachtung ist schon zutreffend, sobald es sich um Mittel handelt, die an und für sich schädlich auf die Mundschleimhaut einwirken. Derartige Mittel sind in warmem Zustande noch weit schädlicher als in kaltem. 1:2000 Thymol von 40° C. z. B. wirkt (siehe Tabelle IV) entgegen der allgemeinen Regel in der Mundhöhle nicht stärker bactericid, als 1:2000 Thymol von 16° C., weil die an und für sich vorhandene stärkere bactericide Wirkung durch die gleichzeitig vorhandene stärkere schleimhautschädigende ausgeglichen wird. Wirklich unschädliche Mittel dagegen sind in der Mundhöhle am unschädlichsten bei Bluttemperatur.

Seit etwa 8 Jahren befasse ich mich mit der Aufgabe, eine anatomisch richtig gebaute Zahnbürste in den Handel zu bringen. Bisher scheiterten meine Versuche an rein gewerblichen Umständen, da die Fabrikation der von mir ausgedachten Bürstenform recht schwierig und wenig lohnend ist. Immerhin war es von allgemeinem Interesse, zu erfahren, in wie weit die mechanische Reinigung mit einer guten Zahnbürste allein im Stande ist, das Spaltpilzwachsthum in der Mundhöhle zu beeinträchtigen. Die betreffenden Versuche wurden Nachmittags in der Weise angestellt, dass erst eine Minute lang gründlich geputzt und sodann eine zweite Minute lang mit Mundwasser nachgespült wurde. Es zeigte sich, dass beim gleichzeitigen Gebrauche der indifferenten blutwarmen Kochsalzpeptonlösung die Zahnbürste im Stande ist, das Wachsthum der Mundkeime um 38 Procent zu vermindern. Bei gleichzeitiger Anwendung von physiologischer Kochsalzlösung erhöhte sich die Zahl auf 50 Procent und bei der Anwendung von Zahnbürste und 5 Procent Odol in blutwarmer physiologischer Kochsalzlösung sogar auf 84 Procent!

Die schleimhautschädigende Wirkung verschiedener Mundwässer.

Bisher war man in zahnärztlichen Kreisen geneigt ein Mundwasser, das nicht allgemein giftig ist und neutral reagirt, also die Zähne nicht entkalkt, als unschädlich zu betrachten. Ich habe dem gegenüber bereits voriges Jahr eindringlich darauf hingewiesen, dass wir bei der Mund- und Zahnpflege ausser den Zähnen auch das Wohl und Wehe der Mundschleimhaut ernsthaft im Auge behalten müssen. Bei verschiedenen zur Mundspülung verwendeten Mitteln, z. B. bei Formalin, Seife, Wasserstoffsuperoxyd, Kali hypermanganicum, Sublimat, liess sich schon von vornherein auf Grund der chemischen Eigenschaften vermuthen, dass ihr Gebrauch für die Mundschleimhaut nicht gleichgültig sein könnte. In-

12*



Tabelle V.

Anzahl der Spülserien	Spülwasser	Procentverhältniss der Colonieen in der Versuchsreihe					Durchschnittswerth der vier letzteren Spülungen	Procentsatz der durch die Mundwässer abgetödteten oder am Wachsthum verhind. Spaltpilze
		anfängliche Controlspülung	nach $^1/_4$ Stunde	nach $^1/_2$ Stunde	nach $2^1/_2$ Stdn.	nach 4 Stunden		
12	Kochsalzpeptonlösung 40° C.	100	98	103	309	433	236 (100 %)	0 Proc.
12	Zahnbürste + Kochsalzpeptonlösung 40° C.	100	58	64	191	266	145 (61 „)	38 „
4	Zahnbürste + 2 Proc. Natronbicarbonicum 40° C.	100	48	48	215	253	141 (59 „)	41 „
10	Zahnbürste mit Franzbranntwein befeuchtet + Nachspülen mit 5 Proc. Alkohol 16° C.	100	34	45	162	244	121 (51 „)	49 „
8	Zahnbürste + physiologische Kochsalzlösung 40° C.	100	50	42	164	219	119 (50 „)	50 „
10	Zahnbürste mit unverdünntem Kosmodont (Seifenspiritus) befeuchtet + Nachspülen mit 5 Procent Kosmodont 16° C.	100	20	35	126	209	97 (41 „)	59 „
4	Zahnbürste + 10 Proc. Miller's Benzoësäuremundwasser 16° C.	100	35	33	126	156	88 (37 „)	63 „
6	Zahnbürste + 5 Proc. Odol 16° C.	100	30	34	99	146	77 (33 „)	67 „
4	Zahnbürste mit unverdünntem Odol befeuchtet + Nachspülen mit 5 Proc. Odol 16° C.	100	15	21	67	126	57 (24 „)	76 „
4	Zahnbürste + 5 Proc. Odol in physiolog. Kochsalzlösung 40° C.	100	10	9	52	76	37 (16 „)	84 „

dessen fehlte es an einer geeigneten Methode, um die schleimhautschädigende Wirkung **unmittelbar** beweisen zu können.

Nach der Anwendung von Seifenspiritus gelegentlich der bakteriologischen Spülversuche beobachtete ich nun, dass nach $2^1/_2$ Stunden ganze zusammenhängende Epithelfetzen sich losgelöst hatten und im Spülwasser schwammen. Nach mehreren, dazu besonders angestellten Controlspülungen kehrte die Erscheinung regelmässig wieder. Wenn man $^1/_2$ bis 1 Minute lang die Mundhöhle mit unverdünntem Seifenspiritus spült und danach 3 bis 4 Stunden lang völlig schweigt, so hat sich die gesammte oberflächliche Lage des Mundhöhlenepithels in quadratcentimetergrossen Fetzen losgelöst und schwimmt im Spülwasser. Seife ist eben das beste Macerationsmittel für Epithelien, das wir besitzen. Darum ist und bleibt auch die Seife das beste Reinigungsmittel für die äussere Haut. Sie löst das Fett der Talgdrüsen auf und erweicht die bereits abgestorbenen, oberflächlichen Hornschichten der Epidermis, so dass sie von ihrer Unterlage abgehoben werden. Im Uebermaasse angewendet, übt Seife jedoch sogar auf die dicke äussere Haut eine schädigende, macerirende Wirkung aus. Das sehen wir z. B. an den aufgesprungenen Händen der Wäscherinnen. Das ungeschützte, zarte Mundhöhlenepithel wird natürlich in viel stärkerem Maasse geschädigt. Fast alle Leute, die regelmässig mit Zahnpasten oder sonstigen Seifenpräparaten putzen, besitzen ein sogenanntes gekörntes Zahnfleisch, d. h. die Bindegewebspapillen, von nur noch wenigen Epithelzellen bedeckt, ragen über die Gesammtoberfläche ein wenig empor. Schliesslich bildet sich an gewissen besonders exponirten Stellen überhaupt kein Epithel mehr, und wir haben dann das ausgeprägte Bild der entzündeten, leicht blutenden Zahnfleischränder vor uns.

Auch verdünnter Alkohol ist, wie Zoologen und Anatomen längst wissen, ein gutes Macerationsmittel. Seife in Verbindung mit Alkohol übt daher auf die Mundschleimhaut eine besonders nachtheilige Wirkung aus.

Spült man mit schwächeren Lösungen von Seife, dann löst sich das Mundhöhlenepithel nicht mehr in grossen, zusammenhängenden Fetzen los, sondern die losgelösten Epithelzellen schwimmen einzeln im Spülwasser. Eine solche Loslösung von einzelnen Epithelzellen findet nun freilich auch unter normalen Umständen statt. Sobald die Zellen ihren natürlichen Lebenslauf vollendet haben, lösen sie sich einzeln los. Bei den durch Altersschwäche abgestorbenen Zellen sind die Zellkerne in der Regel kaum noch sichtbar. Wenn dagegen die noch lebenden Zellen durch Seifenspiritus künstlich abgetödtet worden sind, dann treten in den künstlich zur Abstossung gebrachten Zellenlagen die Kerne deutlich hervor.

Die nächste Aufgabe bestand darin, festzustellen, ob sich unter normalen Umständen, bei Abwesenheit jedes Reizes, der Stoffwechsel des



Mundhöhlenepithels in ungefähr gleichen Grenzen bewege. Zu dem Zwecke sind an mehreren auf einander folgenden Tagen, ganz nach Art der oben mitgetheilten bakteriologischen Versuchsreihe Controlspülungen mit Kochsalzpeptonlösung vorgenommen worden, nur mit der kleinen Abweichung, dass zunächst der Zahnstocher in Anwendung kam, um die gröberen Speisereste zu entfernen. Es folgte die erste Spülung mit Kochsalzpeptonlösung, die in der Regel alle Speisereste beseitigte. Nun wurde das Spülwasser der folgenden 4 Spülungen nach $^1/_4$, $^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden in Bechergläsern aufgefangen, zum Zwecke der Sterilisation mit Formalin versetzt und zur Sedimentirung 24 Stunden lang unter Abschluss von Staub an einen ruhigen Ort gestellt. Das Mucin des Speichels wird durch Kochsalz verflüssigt und vom Formalin nicht gefällt. In Folge dessen ging die Sedimentirung glatt von Statten. Sobald man dagegen mit Wasser statt mit Kochsalzpeptonlösung spült, dann bleibt das Mucin zusammengeballt und hindert die vollständige Sedimentirung.

Nach 24 Stunden konnte mit Hülfe einer Wasserstrahlpumpe die überstehende Flüssigkeit entfernt und das Sediment im Reagensglase gesammelt werden. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass es sich fast ausschliesslich um isolirte Epithelzellen handelte. Dazwischen lagen Speichelkörperchen und Spaltpilze eingestreut; doch kommen sie an Rauminhalt gegenüber der grossen Masse von Epithelzellen kaum in Betracht. Wenn sich zufälliger Weise noch einige Speisereste im Sedimente befanden, so waren sie leicht zu erkennen und liessen sich durch entsprechende Neigungen des Becherglases auf's Trockene setzen und mit Hülfe einer Pipette entfernen. Schliesslich habe ich den Epithelniederschlag in genau graduirte enge Glasröhren gefüllt und ihn darin endgültig unter Formalinbedeckung aufbewahrt.

Es zeigte sich nun zunächst, dass die Masse der im Laufe von 4 Stunden abgestossenen Epithelzellen auch unter normalen Umständen sehr beträchtlich ist. Sie hält sich bei derselben Versuchsperson nahezu innerhalb derselben Grenzen, ist dagegen bei verschiedenen Versuchspersonen verschieden gross. Eine sehr beträchtliche Höhe erreicht die Säule des abgestossenen Epithels bei mir selbst. Ich leide seit etwa 15 Jahren an einem chronischen Mund-Nasen-Rachenkatarrhe. In Folge dessen ist der Stoffwechsel in meiner Mundhöhle ständig beschleunigt. Eine wesentliche Steigerung der Epithelabstossung durch künstliche Reizwirkung ist bei mir nicht gut möglich, und ich eigne mich darum sehr schlecht als Versuchsperson zu diesen Epithelversuchen. Dagegen besitzt meine Frau eine gesunde Mundschleimhaut, ebenso Hr. Zahnarzt Groot, zur Zeit Assistent am Zahnärztlichen Institute in Halle, der die Liebenswürdigkeit hatte, bei sich selbst und seiner Frau Mutter eine Anzahl

meiner Versuche nachzuprüfen und mir seine Ergebnisse zur nochmaligen Veröffentlichung zu überlassen. Bei Frau Groot ist die normaler Weise abgestossene Epithelmenge ganz besonders gering, offenbar deshalb, weil bei der älteren Dame in Folge des vollständigen Mangels natürlicher Zähne auch der Stoffwechsel in der Mundhöhle sich verringert hat.

Die Sedimentirung des Epithels in den engen Glasröhren erfordert einige Zeit und muss durch öfteres Rotiren der in einem Gestelle senkrecht gestellten Röhren und durch ähnliche kleine Kunstgriffe unterstützt werden. Nun fragte es sich, ob die Fehlergrenzen beim Sedimentiren nicht zu grosse seien, als dass die Epithelsäulen in den Glasröhren als Maassstab für die Bestimmung des abgestossenen Epithels gelten könnten. Ich habe daher eine grössere Reihe der älteren Versuche, bei denen aus Mangel an Uebung die Sedimentirung sichtlich am ungleichmässigsten war, dazu verwendet, um das zuvor nach seinem Cubikinhalt bestimmte Sediment nachträglich bei 100° C. einzudampfen und das Gewicht der Epithel-Trockensubstanz zu bestimmen. Es ergab sich, dass unter 38 Wägungen das Gewicht der Trockensubstanz von 1 ccm Epithelniederschlag bei allen Versuchspersonen in maximo zwischen 0·02 bis 0·03 grm schwankte. Nun stellte sich aber weiterhin heraus, dass das Epithel nach dem Spülen mit gewissen Mitteln, wie z. B. mit Kalium hypermanganicum und Ratanhatinctur ein besonders hohes specifisches Gewicht hatte, offenbar deshalb, weil sich einestheils Braunstein, anderentheils Ratanhalack auf die specifisch leichteren Epithelzellen niedergeschlagen und ihr Gewicht erhöht hatte. Es würde also auch die mühsame Wägung aller Epithelniederschläge keine vollkommen einwandfreien Ergebnisse geliefert haben.

Im Durchschnitte beträgt das Gewicht der Trockensubstanz von 1 ccm Epithelniederschlag 0.025 grm. In meinen späteren Versuchen belaufen sich bei derselben Versuchsperson die Fehlergrenzen beim Sedimentiren auf höchstens 10 bis 15 Procent. Die Höhe der sedimentirten Epithelsäule giebt daher einen ziemlich genauen Maassstab ab für die Menge des abgestossenen Epithels überhaupt.

Die Energie des Stoffwechsels in der Mundhöhle wechselt an verschiedenen Tageszeiten. Fast regelmässig stösst sich Nachmittags mehr Epithel ab als Vormittags. Es müssen darum Vergleichsversuche immer genau zu derselben Tageszeit angestellt werden.

Wenn schon bei den Bakterienversuchen Erkältungen sehr störend wirkten, so müssen die Epithelversuche beim Auftreten auch nur des geringsten acuten Katarrhs der Mundhöhle sofort unterbrochen werden. Auch ist in noch viel höherem Maasse auf eine reizlose, gleichmässige Lebensweise und auf absolutes Schweigen während der Versuchsdauer zu achten.



Sehr störend wirkten die grossen Mengen von Mucin, die sich bei mir selbst, besonders nach dem Spülen mit Seife und ähnlichen Reizmitteln absonderten. Bei den früheren Bakterienversuchen wurde dieses abgeschiedene Mucin langsam hinabgeschluckt. In Folge dessen stellten sich aber von Zeit zu Zeit solche unangenehme Magenbeschwerden (Sodbrennen, Magendrücken, saures Aufstossen) ein, dass die Versuche unterbrochen werden mussten. Bei den Epithelversuchen habe ich die mucinhaltige Mundflüssigkeit von Zeit zu Zeit einfach in ein Becherglas auslaufen lassen. Am Schlusse des Versuches wurde das gesammelte Mucin mit Kochsalz gründlich durchgeschüttelt und dem übrigen Spülwasser beigefügt. Seitdem haben die Magenbeschwerden nachgelassen.

Nachdem es feststand, dass unter normalen Verhältnissen bei derselben Person die Höhe der Epithelsäule nur in mässigen Grenzen schwankt, fragte es sich, ob die Epithelabstossung durch schleimhautschädigende Spülwässer wesentlich gesteigert werden könnte. Das war nun in der That der Fall. Abgesehen von der unmittelbaren Abätzung noch lebender Epithelzellen, haben viele Mittel die weit unangenehmere Eigenschaft, dass sie durch Herbeiführung einer venösen Blutstauung die Schleimhaut allmählich zur Entzündung bringen. Spült man solche Mittel an mehreren auf einander folgenden Tagen, dann ist die Höhe der ersten Epithelsäule oft nicht wesentlich höher als die Norm. Nach den folgenden Spülungen aber nimmt die Epithelabstossung entsprechend der steigenden Entzündungshyperämie allmählich zu. Selbstverständlich kann diese Steigerung in der Epithelabstossung nicht ad infinitum fortdauern. Sobald ein gewisser Höhepunkt erreicht ist, beginnt die erhöhte epithelabscheidende Thätigkeit der Schleimhaut zu erschlaffen; die Epithelcurve der Serienversuche wird unregelmässig und fällt wieder ab. Es verursachen nun anscheinend einige Mittel, wie z. B. Tannin, in der Regel eine mehr chronische Entzündung mit belegter Zunge und chronisch geschwellter Schleimhaut. Andere Mittel, wie Borax, regen eine mehr acute Entzündung an. So bewirkte z. B. Borax bei meiner Frau nach 3 tägigem Spülen eine schmerzhafte Mund- und Rachenentzündung mit blauroth verfärbter Schleimhaut, die mehrere Tage anhielt. Die als so harmlos angesehenen und so häufig verordneten Borpräparate sind eben, wie Geheimrath Hofmann schon lange nachgewiesen hat, ausgesprochene Zellengifte, die nebenbei bemerkt noch nicht einmal hervorragend starke antiseptische Eigenschaften besitzen. Aehnlich schädlich wirken Kaliumpermanganat und Wasserstoffsuperoxyd.

Tannin und die verwandten Mittel, Myrrhen-Kino-Ratanhatinctur haben sicherlich schon manchen leichten Mundkatarrh chronisch und unheilbar gemacht. Wie könnte es auch anders sein. Tannin ist bekanntlich das



hauptsächlichste Gerbmittel, das wir besitzen. Es bringt das Protoplasma der Epithelzellen und des Unterhautzellgewebes zur Gerinnung. Die gegerbten, abgetödteten Zellen schrumpfen ein und rufen in der Mundhöhle den eigenartigen zusammenziehenden Geschmack hervor. Nun hat man gemeint, diese adstringirenden Mittel müssten auch im Stande sein, die aufgelockerte Mundschleimhaut in toto „zusammenzuziehen". Ja, wenn man die Mundschleimhaut abziehen und zum Gerben in Tannin legen wollte, dann würde sie freilich zusammengezogen werden. Aber eine aufgelockerte lebende Schleimhaut wird durch Adstringentien zeitlebens nicht zur Zusammenziehung, d. h. zur Ausheilung gebracht, sondern im Gegentheile, sie wird nur noch weiter aufgelockert. Die Entzündung und Auflockerung der Schleimhaut beruht einzig und allein auf Lymphstauung

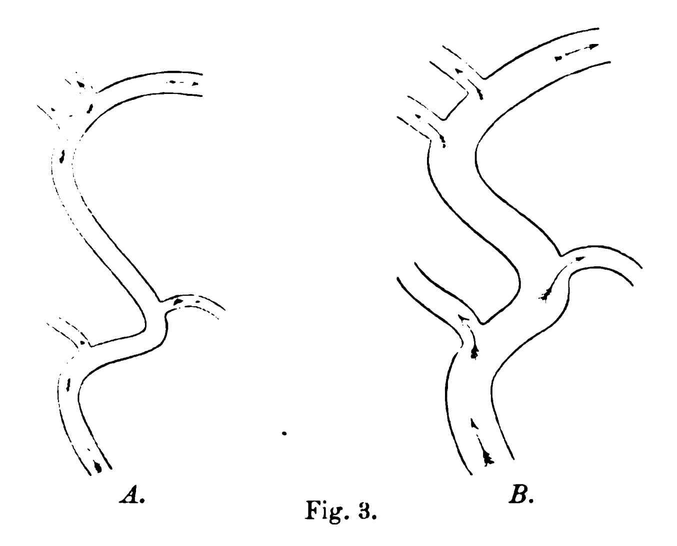


Fig. 3.

und venöser Hyperämie. Das einzig mögliche Gegenmittel ist die Herbeiführung einer arteriellen Fluxion, und diese erzielen wir am besten mit Alkohol. 50- bis 60procent. Alkohol (Franzbranntwein) wirkt in der Mundhöhle stark antiseptisch und ruft zugleich eine starke Erweiterung der kleinen Endarterien und Capillaren hervor.

Fig. 3 zeigt eine kleine Endarterie sammt Capillaren aus dem Mesenterium vom Frosche. $A =$ in normalem Zustande; $B =$ in erweitertem Zustande nach der Einwirkung des Alkoholreizes.

Diese von mir beschriebene Wirkung des Alkohols hat auch Buchner[1] eingehend geprüft und bestätigt.

---

[1] Buchner, Natürliche Schutzeinrichtungen des Organismus und deren Beeinflussung zum Zwecke der Abwehr von Infectionsprocessen. *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 39 u. 40.

Je mehr sich die Endarterien und Capillaren erweitern, um so stärker sinkt der Blutdruck, um so leichter werden die im höher gespannten Gewebe angesammelten Krankheitsstoffe von der Blutbahn aufgesogen. Die Lymphstauung schwindet und die Schleimhaut schwillt ab. Der einfache 50- bis 60 procentigen Alkohol ist das beste Heilmittel bei allen entzündlichen Processen in der Mundhöhle. Wem der gewöhnliche Alkohol nicht receptgerecht erscheint, möge Löffelkrautspiritus verschreiben.

Alkohol darf freilich nur als Heilmittel unter ärztlicher Aufsicht angewendet werden. Zum täglichen Gebrauche als Mundkosmeticum eignet sich das Mittel nicht. Zunächst ätzt und macerirt es in gewissem Grade das Epithel. Bei Normalmenschen (Taf. V u. VII) führt Alkohol eine kleine Steigerung der Epithelabstossung herbei. Aber diese Steigerung hält sich an mehreren auf einander folgenden Tagen ungefähr auf gleicher Höhe und steigt nicht staffelförmig in die Höhe, wie bei den übrigen schleimhautschädigenden Mitteln, die zugleich eine entzündliche venöse Stauung hervorrufen. Bei mir selbst (Taf. VI) ist nach 3 tägiger Anwendung von Alkohol nicht nur kein Steigen, sondern sogar ein geringes Sinken der Epithelsäule nachzuweisen. Die Aetzwirkung des Mittels auf die Mundschleimhaut tritt natürlich auch in meinem Munde ein. Aber sie wird übercompensirt durch die Verminderung der entzündlichen Blutstauung, die Alkohol bei meiner chronisch entzündeten Schleimhaut bewirkt.

Bei anhaltendem Gebrauche ruft Alkohol in der Mundhöhle dieselben Erscheinungen hervor, die bei der Pharyngitis glabra beobachtet worden sind, d. h. die arterielle und capillare Hyperämie wird chronisch, die Schleimhaut schrumpft, die Schleimdrüsen veröden.

Wie ein Blick auf die Taf. III bis VIII lehrt, giebt es unter den zur täglichen Mundpflege empfohlenen Mitteln nur zwei, die als völlig unschädlich empfohlen werden können: physiologische Kochsalzlösung und Odol. Nahezu unschädlich sind ferner schwache Lösungen von Natron bicarbonicum. Alle übrigen untersuchten Mittel müssen als mehr oder weniger schädlich für die Schleimhaut bezeichnet werden.

Bis vor Kurzem galt das Suchen nach spaltpilzfeindlichen und doch zugleich für die Körpergewebe unschädlichen Mitteln für völlig aussichtslos. Man behauptete: „Es giebt kein Bakteriengift, das nicht zugleich Protoplasmagift wäre.“ Diese Ansicht lässt sich nicht mehr ganz aufrecht erhalten.

Die 0·7 procent. sogenannte physiologische Kochsalzlösung ist anerkannter Weise für die thierischen Gewebe völlig unschädlich. 1892 wies



nun Jetter[1] zuerst nach, dass Lösungen von Kochsalz und anderen Salzen im Stande seien, erheblich schädigend auf die Spaltpilze einzuwirken. Ficker[2] hat diese Beobachtung bestätigt und zugleich festgestellt, dass die bactericide Wirkung der Kochsalzlösung sofort aufgehoben wurde, wenn kleine Mengen von Nährsubstanz, insbesondere von Pepton hinzukamen. Baumgarten[3] sucht in dem besonderen Salzgehalte des Blutes die Ursachen für die bekannte bactericide Wirkung des Blutserums. Er macht ganz richtig Störungen der Assimilationsvorgänge einerseits und der Osmose andererseits verantwortlich für den Untergang vieler Spaltpilze in Salzlösungen. Baumgarten bezweifelt jedoch, dass die Keime durch Salzlösungen wirklich abgetödtet werden; sie würden nur geschädigt, könnten aber in diesem geschädigten Zustande den Reiz beim Plattengiessen nicht mehr überstehen und gingen erst dabei zu Grunde.

In letzterem Punkte kann ich Baumgarten nicht beipflichten. Bei meinen Versuchen wurde nur Anfangs einmal mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Erst $^1/_4$ Stunde darauf habe ich die erste von den 4 Controlspülungen vorgenommen, die den spaltpilzfeindlichen Charakter der Salzlösung nachwiesen. Wären die Spaltpilze bei der ersten Spülung mit Kochsalz nicht wirklich abgestorben, sondern nur in den Zustand der Plasmolyse versetzt worden, dann müsste sich dieser Zustand unter den günstigen Ernährungsbedingungen in der Mundhöhle schon nach $^1/_4$ Stunde, noch mehr aber nach $^1/_2$, $2^1/_2$ und 4 Stunden sicherlich ausgeglichen haben!

Wir können also daran festhalten, dass die für thierische Gewebe völlig unschädliche physiologische Kochsalzlösung im Stande ist, eine gewisse Anzahl von den pflanzlichen Zellen der Spaltpilze wirklich abzutödten.

Es geht viel zu weit, wenn man behaupten wollte, Protoplasma sei Protoplasma. Ich möchte im Gegentheile betonen, dass es auf dem ganzen Erdenrunde nicht zwei Lebewesen giebt, deren Protoplasma genau die gleiche Eigenschaft und Zusammensetzung hätte. Durch eine ganze Reihe von Beobachtungen ist festgestellt worden, dass nicht nur verschiedene Arten, sondern dass genau derselbe Spaltpilz je nach der Besonderheit

---

[1] Jetter, Untersuchungen über die „bactericide" Eigenschaft des Blutserums. *Arbeiten auf dem Gebiete der patholog. Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologischen Institute zu Tübingen.* Herausgegeben von Prof. Baumgarten. 1892. Bd. I. H. 3.

[2] Ficker, Ueber Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen. *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXIX.

[3] Baumgarten, Beiträge zur Lehre von der natürlichen Immunität. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 41.



des Nährbodens sich sehr verschieden gegenüber den Angriffen von spaltpilzfeindlichen Mitteln verhalten kann. Nach meinen Versuchen wirken auch in der Mundhöhle des Menschen die verschiedenen Antiseptica bei verschiedenen Personen sehr verschiedenartig. Und da sollte man nicht annehmen können, dass grosse Unterschiede möglich seien in dem Verhalten der membranumhüllten Pflanzenzelle des Spaltpilzes einerseits und der membranlosen thierischen Zelle andererseits gegenüber gewissen chemischen Stoffen[1]!

Besonders interessant ist die Thatsache, dass die 2 procent. Lösungen von Natron bicarbonicum und 1 procent. Lösungen von Ammonium carbonicum fast genau die gleiche spaltpilzfeindliche Wirkung haben, wie physiologische Kochsalzlösung.

1 Procent Hirschhornsalz ist neuerdings von Näther[2] in seiner sehr interessanten Arbeit über Beseitigung der Diphtheriebacillen lebhaft empfohlen worden, um die Keime der Mundhöhle zu „mobilisiren“. Näther hält das kohlensaure Ammon für das beste schleimlösende Mittel und glaubt, dass es völlig unschädlich sei. Dem gegenüber genügt ein Blick auf Taf. V, um die schleimhautschädigende Wirkung des Hirschhornsalzes zu erkennen. Hinsichtlich seiner schleimlösenden Wirkung wird Ammonium carbonicum nach meinen Nachprüfungen von den unschädlichen Mitteln, Kochsalz und Natron bicarbonicum, völlig erreicht, wenn nicht übertroffen.

Ausser Kochsalz hat sich nach meinen Versuchen das Handelsmundwasser Odol als unschädliches und doch erheblich spaltpilzfeindliches Mittel erwiesen. Es ist bedauerlich, dass der Fabrikant die Constitution des im Odol enthaltenen Antisepticums geheim hält. Die Eigenschaften dieses

[1] Während des Druckes dieser Arbeit hatte ich Gelegenheit eine sehr interessante Beobachtung über den schädlichen Einfluss des Kochsalzes auch auf das Leben höherer Pflanzen zu machen. Ein Grosshändler in amerikanischen Fleischwaaren lagerte das zum Einpöckeln benützte Kochsalz (Seesalz) vorübergehend in kleinen Haufen in einem Baumgarten ab. Durch Regenniederschläge war ein Theil des Salzes in den Boden eingedrungen. In Folge dessen gingen die in der Nachbarschaft stehenden Bäume nach und nach zu Grunde. Am raschesten vernichtete das Kochsalz Eschen, die bekanntlich einen sehr lebhaften Saftumlauf haben. Ein Prachtexemplar dieses Baumes von $2\frac{1}{2}$ m Umfang und nahezu 30 m Höhe verdorrte, obwohl das Kochsalz nur mit einem kleinen Theile seiner ausgebreiteten Wurzeln in Berührung gekommen sein konnte. In meiner Thüringer Heimath verwendet man Viehsalz, um den Rasen auf Gartenwegen und in Pflasterfugen zu vernichten. — Andererseits giebt es wieder eine grosse Anzahl von Pflanzen, die nur auf salzhaltigem Boden, am Meeresstrande oder in der Nähe von Salinen gedeihen!

[2] Näther, Versuche über die Beseitigung der Diphtheriebacillen aus der Mundhöhle von Reconvalescenten. *Deutsche militair-ärztliche Zeitschrift.* 1900. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Leipzig.)



Antisepticums habe ich bereits in meinen früheren Arbeiten mitgetheilt. In jüngster Zeit ist mir die chemische Constitution sub sigillo mitgetheilt worden. Danach ist das Mittel nicht ein durch irgend welche Zusätze dauernd flüssig gemachtes Salol, sondern ein zwar dem Salol nahestehender, aber in seiner Constitution davon verschiedener chemischer Körper.

Hefelmann[1] führt die Wirkung des Odols darauf zurück, dass sich sein Antisepticum bei der Berührung mit lebenden Zellen in neutrale Salicylsäureeiweissverbindungen aufspaltet, die in stadio nascendi besonders stark baktericid wirken. Es wäre aber auch noch eine zweite Art der Wirkung denkbar, auf die mich Hr. Geheimrath Hofmann aufmerksam machte. Das Odolantisepticum ist ein ölartiger, zähflüssiger Stoff, der eine solch grosse Flächenanziehung besitzt, dass er selbst von der glatten Fläche des Trinkglases auf mechanischem Wege nur sehr schwer entfernt werden kann. In der Mundhöhle überzieht dieses in Form einer Emulsion im Odolspülwasser enthaltene Antisepticum nach dem Spülen die Schleimhaut in einer zusammenhängenden dünnen Schicht. Möglicher Weise umhüllt es auch die einzelnen oberflächlich liegenden Spaltpilze von allen Seiten, schneidet ihnen die Nahrungszufuhr ab und erstickt sie auf rein mechanischem Wege.

Wir haben in der Pharmacopoe ein Mittel, das dem Odolantisepticum in vieler Hinsicht nahe steht, nämlich Perubalsam. Abgesehen von wohlriechenden Harzen enthält das Mittel als antiseptisch wirksamen Stoff einen Zimmtsäure-Benzylester von der Zusammensetzung $C_{16}H_{14}O_2$. Dieses sogenannte Cinnamein ist gleichfalls ein zähflüssiger, ölartiger Körper, der sich bei Berührung mit lebenden Geweben in Zimmtsäure und Benzoësäure aufspaltet. Eine Emulsion von Perubalsam 1 : 60 hat in der Mundhöhle eine ebenso starke Wirkung, wie 5 procent. Odol. Leider ist aber das Mittel als Mundwasser nicht zu verwenden. Es reagirt schwach sauer, schmeckt schlecht und ist zu theuer.

Schlussfolgerungen.

1. Auf dem Gebiete der Zahn- und Mundpflege wurde bisher nicht scharf genug unterschieden zwischen den eigentlichen Heilmitteln, die zur Heilung der erkrankten Mundschleimhaut dienen, und die nur unter ärztlicher Aufsicht zu gebrauchen sind, und zwischen den zum täglichen Gebrauche dienenden hygienisch-kosmetischen Mitteln.

[1] **Hefelmann**, Ueber die Wirkung des Odols im Munde. Versuche über die Spaltbarkeit des Odolantisepticums. *Allgem. med. Centralzeitung.* 1899. Nr. 55 u. 56.



2. Das beste Heilmittel für die erkrankte Mundschleimhaut ist der 40- bis 60 procent. Alkohol. Er besitzt eine starke keimvernichtende Kraft und bewirkt eine bedeutende arterielle Fluxion. In Folge des starken arteriellen Blutzuflusses heilt das erkrankte Gewebe aus.

3. Zur andauernden täglichen Mundpflege eignet sich der Alkohol nicht. Er führt, im Uebermaasse angewendet, chronische capillare Hyperämie und weiterhin Schrumpfung der Mundschleimhaut und ihrer Drüsen herbei.

4. Hygienisch-kosmetische Mittel sollen zur Gesunderhaltung der Mundorgane dienen. Diese täglich anzuwendenden Mittel müssen in erster Linie unschädlich sein.

5. Die mechanische Reinigung der Mundhöhle mit Hülfe von zweckmässigen Zahnbürsten und von Spülungen wird stets die Grundlage einer jeden Zahn- und Mundpflege bilden.

6. Die mechanische Reinigung schafft in erster Linie Schleim- und Speisereste, die günstigsten Nährböden für zahlreiche Spaltpilze, bei Seite; sie ist aber auch im Stande, eine erhebliche Anzahl der oberflächlich lagernden Spaltpilze selbst zu entfernen.

7. Spaltpilzfeindliche und dabei unschädliche Spülwässer sind sehr empfehlenswerth, um das übermässige Wachsthum der im Munde vorkommenden schädlichen Spaltpilze einzudämmen.

8. Ein gutes antiseptisches Spülwasser muss folgende Eigenschaften haben:

1. Vollkommene Unschädlichkeit:
   a) gegenüber der Mundschleimhaut (keine Aetzwirkung),
   b) gegenüber den Zähnen (keine Entkalkung),
   c) gegenüber dem Gesammtorganismus (keine Giftigkeit).
2. Genügende antiseptische Wirkung.
3. Guten Geschmack und Geruch.

9. Weitaus die meisten aller bisher im Handel befindlichen und ärztlicherseits verschriebenen Mittel erfüllen die genannten Bedingungen nicht.

10. Mangelhafte antiseptische Wirkung und schlechter Geschmack sind noch die geringsten Nachtheile, die vielen Mundwässern anhaften.

11. Die Ansicht, dass Mundwässer, die nicht allgemein giftig sind und neutrale Reaction besitzen (Unschädlichkeit für die Zähne!), überhaupt in der Mundhöhle unschädlich seien, ist irrthümlich.

12. Bisher ist viel zu wenig auf die Schädigung der Mundschleimhaut durch Mundwässer geachtet worden. Eine gesund erhaltene Mundschleimhaut bildet aber die Grundbedingung für jede erfolgreiche Zahn- und Mundflege.



13. Eine grosse Anzahl der zur täglichen Anwendung empfohlenen Mundwässer schädigt die Mundschleimhaut in erheblichem Maasse und bringt sie zur chronischen Entzündung. So z. B. Kalium hypermanganicum, Wasserstoffsuperoxyd, Thymol, Tannin, Eucalyptus-Myrrhen-Ratanha-Kinotinctur, Seife, Formaldehyd, Kosmin, Borsäure, Borax.

14. Absolut unschädlich und doch von einer nicht unbeträchtlichen spaltpilzschädigenden Kraft ist die blutwarme „physiologische Kochsalzlösung".

15. Nächst Kochsalz ist das Handelspräparat Odol ein Mundwasser, das hinsichtlich der Unschädlichkeit dem Kochsalz am nächsten steht und das, wie die Zahlen der vorstehenden Tabellen beweisen, die physiologische Kochsalzlösung nicht unerheblich an spaltpilzschädigender Wirkung übertrifft.

16. An dritter Stelle ist 2 procent. Lösung von Natron bicarbonicum zu empfehlen.

17. Am zweckmässigsten ist es, die Mundwässer in lauwarmem Zustande zu verwenden.

18. Auch mit den stärksten antiseptischen Mitteln ist es nicht möglich, die Mundhöhle auch nur auf kurze Zeit zu sterilisiren. Und wenn es möglich wäre, so würde dem Körper durch eine Sterilisirung der Mundhöhle doch weit mehr Schaden als Nutzen zugefügt. Wir brauchen zur täglichen Reinigung der Mundhöhle kein Desinficiens, sondern nur ein Antisepticum, das die übermässige Entwickelung der Spaltpilze in mässigen Grenzen hält.

Leipzig, August 1900.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. III—VIII.)

Tafel III.

Höhe der Epithelsäulen nach dem Spülen mit verschiedenen Mundwässern bei Frau Else Röse. Jedes Mittel ist an demselben Tage zwei Mal, je Vormittags und Nachmittags, gespült worden. 5 proc. Kochsalzodol wurde nur ein Mal, Nachmittags, gespült. Auf die Hälfte verkleinert.

Tafel IV.

Höhe der Epithelsäulen nach dem Spülen mit verschiedenen Mundwässern bei Hrn. Dr. Röse. Jedes Mittel, mit Ausnahme von 5 proc. Kochsalzodol, ist an demselben Tage zwei Mal, je Vormittags und Nachmittags, gespült worden. Auf die Hälfte verkleinert.

Tafel V.

Serienversuche bei Frau Else Röse. Jedes Mittel ist an mehreren unmittelbar auf einander folgenden Vor- und Nachmittagen geprüft worden. Auf die Hälfte verkleinert.

Tafel VI.

Serienversuche bei Hrn. Dr. Röse. Jedes Mittel ist an mehreren unmittelbar auf einander folgenden Vor- und Nachmittagen geprüft worden. Auf die Hälfte verkleinert.

Tafel VII.

Serienversuche bei Hrn. Zahnarzt Groot. Jedes Mittel ist an drei auf einander folgenden Tagen je ein Mal Abends geprüft worden. Auf die Hälfte verkleinert.

Tafel VIII.

Sieben Einzelversuche und zwei Serienversuche bei Frau Groot. Auf die Hälfte verkleinert.



[Aus dem Neuen allgemeinen Krankenhause zu Hamburg-Eppendorf.]

Zur Aetiologie des Keuchhustens.

Von

Dr. **Georg Jochmann** und Dr. **Paul Krause.**

(Hierzu Taf. IX.)

I. Kurze Besprechung der Litteratur.

Der Keuchhusten ist eine contagiöse Infectionskrankheit: Epidemieen und einzelne Ansteckungen durch Keuchhustenkranke sprechen dafür zur Genüge.

Sticker (1) giebt in seiner Monographie über den Keuchhusten eine in jeder Hinsicht vortreffliche Uebersicht über die Gründe, welche für und gegen diese Ansicht sprechen; wir verweisen deshalb darauf.

Ueber die Aetiologie des Keuchhustens ist bis heutigen Tages keine Einigung erzielt worden. Es ist hier nicht der Platz, auf alle diesbezüglichen Arbeiten einzugehen; nur eine kurze orientirende Uebersicht möge gestattet sein.

Einige ältere Ansichten über die Aetiologie des Keuchhustens.

Linné (2) soll die wahre Ursache des Keuchhustens in einem contagium animatum gesucht haben, worunter er sich die Eier kleinster Thiere gedacht haben soll. Ebenso glaubt der Schwede Rosén v. Rosenstein (3), dass die Ursache des Keuchhustens in einer fremdartigen Substanz oder in einem schädlichen Principe gelegen sei, welches wächst und sich selbstständig vermehrt.

Poulet (4) (1867) sah in der Ausathmungsluft von Keuchhustenkranken die Monas termo; Janssen (5) (1868) fand im Sputum kleine Gebilde mit geisselartigen Fortsätzen, Ransome (6) (1870) Aehnliches.



Letzerich (7) (1870) erhielt aus Sputum kleine, braunrothe Pilze und impfte von Culturen auf Semmelmilchbrei mit Erfolg in die Trachea von jungen Hunden und Kaninchen.

Diese Angabe, welche von Henke (8) bestätigt wurde, widerlegte Birch-Hirschfeld (9) in einwandsfreier Weise.

Tschamer (10) (1878) sah nadelspitzgrosse Organismen, welche in der Stimmritze und Trachea sassen, als Urheber des Keuchhustens an und machte mit Culturen desselben auf Kartoffeln und Brot erfolgreiche Impfungen an sich selbst. Rossbach (11) wies diese Ansicht als unzutreffend zurück.

Alle diese Angaben und ähnliche nicht besonders erwähnter Autoren halten einer Kritik nicht stand. In den letzten beiden Jahrzehnten wurden die Arbeiten über den Krankheitserreger des Keuchhustens zahlreicher — und widersprechender als je.

Fast jeder neue Untersucher widerlegt die Angaben seiner Vorgänger und sieht neue Organismen als Erreger der Tussis convulsiva an.

A. Protozoën als Erreger des Keuchhustens.

Deichler (12) beschreibt als constante Bewohner des Keuchhustensputums auf der Höhe des Processes eigenthümliche Gebilde, welche er als Protozoën anspricht. Dieselben stellen, lebend untersucht, gestreckte, keulenartige Formen dar, das spitze Ende ist oft in einen cilienartigen Fortsatz ausgezogen, während das abgerundete amöboide Fortsätze aussendet. Die genauere Beschreibung ist im Original nachzulesen.

Man gewinnt daraus fast den Eindruck, als ob Deichler Leukocyten als Amöben angesprochen habe. Auch Baumgarten bemerkt in seinem Referate, dass eine Bestätigung dieser eigenthümlichen Beobachtungsresultate abzuwarten sei.

Veranlasst durch die wenig günstige Aufnahme, welche seine früheren Mittheilungen über Protozoën im Keuchhustensputum gefunden hatten, stellte Deichler (13) eine Nachprüfung seiner eigenen Arbeit an und fand ähnliche Gebilde.

Auch Kurloff (14) fand in frischen Sputumpräparaten amöbenartige Gebilde, die ein kleinkörniges Protoplasma und eine lebhafte Eigenbewegung haben.

Ferner sah er eine andere Art amöboider Körperchen, die sich mittelst Wimperhaaren fortbewegten, deren Deutung er ungewiss lässt.

Behla (15), welcher auch bei anderen Krankheiten häufiger im Gegensatz zu anderen Untersuchern Protozoën gesehen hat, bestätigt die Angaben Deichler's und Kurloff's.



Uns selber ist es nie gelungen, trotzdem wir unser besonderes Augenmerk darauf richteten, im Keuchhustensputum Gebilde zu finden, welche mit Sicherheit als Amöben angesprochen werden könnten.

B. Kokken als Erreger des Keuchhustens.

Moncoroo (16) und Silva Aranja fanden in gelblichen Kügelchen, welche sie häufig im Keuchhustensputum sahen, zahlreiche Mikrokokken-Zooglöahaufen, von denen nach ihrer Angabe auch die Eiterkörperchen des Sputums durchsetzt sind; diese Mikrokokken sollen in vielen Fällen Eigenbewegungen zeigen. Barlow (17) liess durch Broadbent eine Nachprüfung dieser Angaben machen; derselbe sah ähnliche Mikrokokken, sowohl in Ketten, als in Gruppen, ausser im Sputum in erster Linie auch in den Epithelzellen des Larynx und Pharynx.

Weder Moncoroo, noch Broadbent machten Züchtungsversuche; ihre Angaben sind daher nur von sehr beschränktem Werthe.

Haushalter (18) züchtete in drei Fällen von Bronchopneumonie im Anschlusse an Keuchhusten aus dem aus der Fingerkuppe entnommenen Blute den Staphylococcus pyogenes, welcher nach seiner Ansicht die Complication veranlasst haben soll. Nach unserer Meinung ist dieser Befund ohne jeden Belang, da vor allem bei der angewandten Methode grosser Zweifel gehegt werden muss, ob der gezüchtete Mikroorganismus aus dem Blute stammt.

Mircoli (19) züchtete in zwei Fällen vom Kehlkopfe Keuchhustenkranker Streptokokken, die für Thiere nicht pathogen waren; da er aus dem Kehlkopfe von fünf gesunden Kindern ähnliche Streptokokken erhielt, zweifelt Mircoli selbst, dass sein Befund etwas mit der Aetiologie des Keuchhustens zu thun habe.

Etwas eingehender sollen hier die Arbeiten Ritter's (20) über die Aetiologie des Keuchhustens behandelt werden.

Er fand in sehr zahlreichen Fällen im Keuchhustensputum stets ausserordentlich kleine Mikrokokken, die mit Hilfe der stärksten Vergrösserungen als Diplokokken erkannt wurden; sie kommen in allen möglichen gröberen Anordnungen als kleine Häufchen, in geraden oder gewundenen Ketten, fast isolirt, aber stets gepaart vor; sie färben sich mit den gewöhnlichen basigen Anilinfarben gut, auch nach Gram.

Auf Agar bilden sie nach 18—20 Stunden sehr feine, völlig circumscripte, opalescirende, mattgraue Colonieen; Agar ist ein sehr guter Nährboden für die Ritter'schen Diplokokken; auf Bouillon, Gelatine, Kartoffeln



kein Wachsthum; auf Blutserum und Glycerinagar geringeres Wachsthum als auf Agar. Temperaturoptimum zwischen 36—38° C; die Lebensfähigkeit und Uebertragbarkeit der Diplokokken ist nur kurz.

Ritter, welcher seine Angaben selbst in verschiedenen Discussionen auf das energischste vertheidigte, besonders auch gegen Czaplewski, verfügt über 2000 Sputumuntersuchungen mit Anlegung von etwa 30000 Agarplatten.

Bestätigung dieser Angaben von anderer Seite ist, soviel uns bekannt, nur von Ritter's Schüler Buttermilch (21) erfolgt, während andere Untersucher, so Michael Cohn und H. Neumann, Czaplewski und Hensel den beschriebenen Diplococcus nicht fanden.

Auch wir müssen uns nach unseren Untersuchungsresultaten den letztgenannten Forschern anschliessen.

C. Bacillen als Erreger des Keuchhustens.

Burger (22) fand in den anfangs weisslichen, später gelblichen, im Keuchhustensputum vorkommenden Flöckchen zahlreiche Stäbchen von verschiedener Grösse, die kleineren von gestreckt ellipsoider Form, die grösseren mit einer mittleren Einschnürung versehen, theils regellos, theils in Reihen und Ketten, dann wieder in zusammenhängenden Gruppen von unregelmässiger Form. Da dieselben in keinem anderen Sputum vorkommen, im Keuchhustensputum massenhaft und ihre Menge im geraden Verhältniss zur Intensität steht, so erklärt sie Bucher für specifische Keime.

Nach Hagenbach (23), welcher mit Vogel auf dem Congress für innere Medicin i. J. 1887 über den Keuchhusten referirte, verhielt sich Robert Koch sehr skeptisch gegen Bucher's Angaben, auch Garré habe zwar die Bucher'schen Bacillen im Keuchhustensputum gefunden, doch kämen dieselben auch in anderen Sputis vor.

Da Bucher keine Züchtungsversuche machte, so haben auch seine Angaben heute nur noch beschränkten Werth.

Interessant ist es, dass Czaplewski die Bucher'schen Bacillen als mit den von ihm selbst isolirten als wahrscheinlich identisch ansieht.

Grössere Beachtung verdienen die Befunde von Afanassiew (24), welcher zuerst bei seinen eigenen, später auch bei fremden Kindern (im Ganzen zehn Fälle) in den im Stadium convulsivum ausgeworfenen Schleim- und Eiterklümpchen kleine, kurze Stäbchenbakterien von $0 \cdot 6$—$2 \cdot 2\,\mu$ = Mikra Länge gefunden hat, theils einzeln, theils zu zweien, theils in Ketten oder in kleinen Haufen liegend, die nur bei sehr starker Vergrösserung sichtbar waren.



Es gelang Reinculturen auf Agarplatten zu erzielen, bei Zimmertemperatur wuchsen sie langsamer, als bei Bruttemperatur.

Bei jungen Hunden und Kaninchen, welche sowohl in die Luftröhre, wie unmittelbar in die Lungen mit derartigen Culturen injicirt wurden, glückte es, in einzelnen Fällen keuchhustenähnliche Zustände zu erhalten, meist allerdings bestand die Erkrankung nur in Bronchial-, Nasen- und Augenkatarrh. Afanassiew fand diese Keime auch in Leichen von an Keuchhusten verstorbenen Kindern und zwar im Safte der hepatisirten Stellen der Lungen bezw. in bronchopneumonischen Knoten, im Schleim der Luftröhre und der kleinen Bronchien. Er hält sich daher für berechtigt, diese Bakterien als die wahre Ursache des Keuchhustens anzusehen und sie mit dem Namen „Bacillus tussis convulsivae" zu bezeichnen. Bestätigt wurden diese Angaben von Afanassiew, von Szemetschenko (25) und Wendt (26), welche die constante Anwesenheit dieses Bacillus im Respirationstractus bezw. im Blute und in den inneren Organen von Keuchhustenkranken fanden.

Auch v. Genser (27) hält die Afanassiew'schen Keime für specifisch, ohne übrigens eigene Nachprüfungen gemacht zu haben.

Koplik (28) hat in 13 Fällen denselben Bacillus gefunden; da aber die Thierexperimente damit völlig ungenügend ausfielen, sieht er ihn nicht als specifisch an. Als geeigneten Nährboten empfiehlt er Hydrocelenflüssigkeit.

Wichtiger, als alle bisher erwähnten Arbeiten ist die von Czaplewski und Hensel (29).

Diese beiden Untersucher fanden in dem frischen unmittelbar nach dem Keuchhustenanfalle aufgefangenen Auswurfe durch Färbung mit Carbolglycerinfuchsin und nachheriger Behandlung des gefärbten Präparates mit 1 procentiger Essigsäure regelmässig viele kleine Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden ungefähr von der Grösse des Influenzabacillus; sie unterscheiden sich im Wachsthume dadurch von demselben, dass sie auf den gewöhnlichen Nährböden gedeihen; bei vorsichtiger Färbung trat Polfärbung der Bakterien ein, während bei stärkerer Färbung sich das ganze Stäbchen färbte, dessen ausgewachsene Form etwa 2—3 Mal so lang, als breit war, während in den Aussaaten, seltener auch im Auswurfe selbst noch längere, selbst fadenförmige Formen vorkamen.

Uebertragungsversuche auf Thiere waren erfolglos, doch schliessen Czaplewski und Hensel aus dem regelmässigen Vorkommen dieser Spaltpilze, dass sie die Erreger des Keuchhustens seien.

In jeder Weise bestätigt wurde dieser Befund von Zusch (30) und A. Cavasse (31).

Auch Koplik (32) fand, unabhängig von Czaplewski, ein dem Influenzabacillus ähnliches Stäbchen, welches mit dem Czaplewski'schen identisch zu sein scheint. Thierversuche fielen auch damit negativ aus.

Spengler (33) hat ähnliche Bacillen im Sputum von Keuchhustenkranken, wie die eben genannten Autoren, bei einer Epidemie in Davos gesehen, ohne dass er sie für specifisch angesprochen hat.

Czaplewski (34) vertheidigte seine Angaben gegen Spengler. Ritter, Buttermilch, Vincenzi mit grosser Liebe und Energie.

Arnheim (35) fand in ca. 40 Keuchhustenfällen den Czaplewski-schen Bacillus; Ritter erklärte in der Discussion denselben mit seinem Diplococcus identisch, eine Behauptung, welche Aronson, der seinerseits auch die Czaplewski'schen Angaben bestätigte, zurückwies.

Vincenzi (36) fand in 18 Keuchhustenfällen im Sputum ein kleines Bacterium, welches in Bouillon bei 37° C nach 24 Stunden eine leichte, diffuse Trübung erzeugt. Nach 2 Tagen bildet sich ein feiner Bodensatz, während die Reaction der Bouillon sauer wird. Nach 3 Tagen hört das Wachsthum der Bouillon auf und dieselbe wird wieder klar; unter 24° C wächst das Bacterium überhaupt nicht, ebenso nicht auf Gelatine.

Auf Agar bildet er sehr kleine, rundliche Colonieen, er besitzt geringe Lebensfähigkeit, ist sehr empfindlich gegen Austrocknung und höhere Temperatur und entfärbt sich nach Gram. Thierversuche waren negativ.

Elmassian (37) fand im Sputum von Keuchhustenkranken einen dem Pfeiffer'schen Influenzabacillus ähnlichen Bacillus, welcher sich nur durch die Art der Reincultur auf Serum von demselben unterschied. Unter 32 Fällen von Keuchhusten wurde der fragliche Bacillus 8 Mal im Bronchialsekret isolirt, jedoch auch in Fällen acuter Bronchitis ohne Keuchhusten bei Erwachsenen und Kindern gefunden, so dass ihm Elmassian eine ätiologische Bedeutung für den Keuchhusten nicht beimisst.

Luzzatto (38) untersuchte in 41 Fällen das Keuchhustensputum auf Löffler's Blutserum und auf mit Blut bestrichenen Agarplatten.

Es ist bemerkenswerth, dass er den Czaplewski'schen Bacillus nie gefunden hat; dagegen gelang es, zwei Arten von Keimen zu isoliren; ein Mal einen in die Gruppe des Diplococcus lanceolatus gehörigen, das andere Mal einen Influenza ähnlichen, welchen er Bacillus minutissimus sputi nennt und mit dem von Elmassian gesehenen für identisch hält.



II. Eigene Befunde.

Bevor wir zur Betrachtung unserer eigenen Resultate gehen, ist kurz der Weg zu beschreiben, den wir bei unseren über viele Monate sich erstreckenden Untersuchungen eingeschlagen haben. Die zur Beobachtung gelangten Fälle waren fast durchgängig frisch in's Krankenhaus eingeliefert und gehörten demgemäss grösstentheils dem ersten Stadium des Keuchhustens an. Sie betrafen meistens Kinder im Alter von 1—6 Jahren, ferner einige im Alter von 6—12 Jahren; eine Patientin war 20 Jahre alt. Das durch den Anfall gewonnene Sputum, welches in sterile Glasschalen entleert worden war, wurde thunlichst innerhalb einer Stunde nach der Entleerung zu Aussaaten verwendet. Der Auswurf war im Allgemeinen zäh, schleimig, fadenziehend und enthielt weisslich graue Flöckchen, welche in erster Linie bei der Untersuchung berücksichtigt wurden. Er reagirte meist alkalisch. Das Sputum wurde nach dem von Pfeiffer für Influenzabacillen empfohlenen Verfahren in sechs sterilen mit sterilem Wasser gefüllten Petrischalen ausgewaschen und dann auf Glycerinagar ausgesät. Von Fall IV an wurde stets auch gleichzeitig eine Aussaat auf Blutagar hergestellt, aus später zu erwähnenden Gründen. Als Blutagar wurde eine mit sterilem menschlichen Placentarblut bestrichene Glycerin-Agarplatte verwendet. Im Gegensatz zu Spengler haben wir das Auswaschen des Sputums für durchaus nothwendig befunden, da sonst fast immer eine üppige Flora von Mundbakterien auf der Platte als ungern gesehenes Unkraut emporschoss. Vor der Aussaat wurde stets eine Anzahl directer Ausstrichpräparate des ausgewaschenen Sputums angefertigt und 1. mit Carbolfuchsinlösung 1:10, 2. mit Methylenblau, 3. nach Gram gefärbt. In mehreren Fällen wurde das Sputum auch in ungefärbtem Zustande im hängenden Tropfen untersucht.

Die Untersuchung des ungefärbten Auswurfs im hängenden Tropfen bot im Allgemeinen folgendes Bild: Neben massenhaften Leukocyten finden sich rothe Blutkörperchen, Plattenepithelien und Detritus-Massen, ferner amorphe, mitunter auch rhomboïde Krystalle. Dazwischen sieht man stets unbewegliche kleinste, meist in Häufchen liegende Stäbchen von der Grösse des Influenzabacillus, welche meist vor den ausserdem noch vorhandenen Diplokokken und Haufen- und Kettenkokken überwiegen. Ab und zu waren auch noch hefeähnliche runde bis ovoïde Gebilde zu constatiren.

In einer Anzahl von Fällen wurde speciell darauf geachtet, ob in den frisch untersuchten oder im heizbaren Objecttisch aufbewahrten Präparaten Gebilde vorhanden sind, welche man mit Sicherheit als Protozoën hätte ansprechen können. Da aber nie Gebilde constatirt wurden, welche neben



dem Kern eine deutlich pulsirende Vacuole erkennen liessen oder welche cilienähnliche Fortsätze zeigten, so können wir nach unseren Untersuchungen das Vorkommen von Protozoën im Keuchhusten-Auswurfe nicht bestätigen.

In dem gefärbten Ausstrichpräparate beobachteten wir mono- und polynucleäre Leukocyten, mitunter wenige rothe Blutkörperchen, Plattenepithelien und ausgestrichene Kerne. Die hauptsächlich in Erscheinung tretenden bakteriellen Gebilde waren neben Lanceolatusformen, Ketten- und Haufenkokken vor allem stets in grosser Ueberzahl vorhandene, in Haufen, Nestern und Zügen liegende, mitunter in Zellen eingeschlossene, kleinste ovoïde Kurzstäbchen von der Grösse des Influenzabacillus. Dieselben gaben bei schwacher Carbolfuchsinfärbung, besser noch bei Methylenblaufärbung deutliche Polfärbung und machten deshalb hie und da den Eindruck von kleinsten Diplokokken. Bei der Gramfärbung entfärbten sich diese kleinsten Kurzstäbchen in allen, ausser in drei Fällen, auf die wir noch später zurückkommen werden.

Die mit den Sputumflöckchen beschickten Blut-Agarplatten zeigten nach 24 stündigem Aufenthalte im Brütschrank bei 37° meist folgenden Befund: Zwischen wenigen grossen gelben Colonieen einer Sarcineart und häufig vorkommenden, aus schlanken langen Stäbchen zusammengesetzten, gelblichen Colonieen fanden sich kleine grauweisse Colonieen von Streptokokken sowie solche von Diplococcus lanceolatus, die sich präsentirten als blassgraue kleine runde Gebilde mit unregelmässigem Rand. Während nach 48 Stunden das Centrum der Lanceolatuscolonieen wie eingesunken erscheint und durch seine grauweissliche Farbe sich abhebt von der zartblauen durchsichtigen Peripherie, ist bei jüngeren Lanceolatuscolonieen also nach 24 Stunden mitunter eine Verwechselung der kleinen zartbläulichen durchscheinenden Colonieen nicht ausgeschlossen mit derjenigen Form von Colonieen, die wir als die häufigste bei unseren Untersuchungen auf der Platte beobachten konnten: mit den als stark lichtbrechenden Thautropfen imponirende Colonieen des schon im Ausstrich so massenhaft gesehenen ovoïden Kurzstäbchens von der Grösse des Erregers der Influenza.

Auf den Glycerin-Agarplatten ohne Blut fanden sich die Thautröpfchen-Colonieen nicht vor, ausser in 3 Fällen, bei denen sich dann herausstellte, dass die darin enthaltenen Stäbchen auch bei der Weiterzüchtung auf hämoglobinfreien Nährböden in Thautropfencolonieen gediehen, sich also von den sonst von uns beobachteten wesentlich unterschieden.

In jedem untersuchten Falle wurde eine Reincultur der in den beschriebenen thautröpfchenähnlichen Colonieen gewachsenen Kurzstäbchen auf einer Blut-Agarplatte hergestellt, um von hier aus die weiteren bio-



logischen Eigenschaften derselben beobachten zu können. Die Reinculturen wurden stets in mehreren Generationen fortgezüchtet und Uebertragungsversuche gemacht auf gewöhnlichem Glycerinagar, Gelatine, Ascitesserum, Ameisenagar, Kartoffel, Milch, Lackmusmolke, Löfflerserum und Bouillon. Ferner wurde stets die Beweglichkeit und das Verhalten der Gramfärbung gegenüber untersucht.

Bei der systematischen Durchführung dieses Untersuchungsganges fanden wir 3 Bakterien, welche morphologisch im Ausstrichpräparate vollkommen übereinstimmten und auf der mit dem Auswurfe beschickten Blut-Agarplatte als Thautröpfchencolonieen imponirten, aber durch ihre biologischen Eigenschaften und ihr Verhalten der Gramfärbung gegenüber sich von einander unterschieden. Die Art dieser Differenzen lehrt ein Blick auf folgende kleine Tabelle:

	A	B	C
Wie oft gefunden:	18 Mal	4 Mal	3 Mal
Form und Grösse	Grösse d. Influenza-bacillus, eiförmig	wie A	wie A
Beweglichkeit	unbeweglich	wie A	wie A
Gramfärbung	negativ	wie A	positiv
Wachsthum auf Blutagar .	Thautröpfchen	wie A, öfter Confluenz	wie A
Wachsthum auf hämoglobinfreien Nährböden . . .	kein Wachsthum	Wachsthum	Wachsthum

Was zunächst das unter C aufgeführte Stäbchen betrifft, den nach Gram färbbaren, auf hämoglobinfreien Nährböden wachsenden influenzaähnlichen Bacillus, den wir in 3 Fällen gefunden haben, so möchten wir schon jetzt bemerken, dass wir demselben eine Bedeutung für die Aetiologie des Keuchhustens nicht beimessen, weil derselbe so selten von uns gesehen wurde und weil wir genau den gleichen Bacillus aus den Fäces eines Typhuskranken isoliren konnten. Ferner ist hinzuzufügen, dass wir in dem einen dieser 3 Fälle im Ausstrichpräparate eine grosse Menge influenzaähnlicher Stäbchen sahen, von denen nur ein kleiner Theil positive Gramfärbung zeigte, während die Mehrzahl sich negativ gegen die Gramfärbung verhielt, dass hingegen die Aussaat desselben Auswurfes auf eine Glycerin-Agarplatte ausschliesslich als Thautröpfchen imponirende Colonieen von Stäbchen mit positiver Gramfärbung ergab. Dieser scheinbare Widerspruch erklärt sich daraus, dass in jenem Falle, sowie in all' diesen 3 Fällen, die gleich im Anfang unserer Untersuchungen zur Beobachtung kamen, die Aussaat des Sputums nur auf Glycerinagar erfolgte und eine gleichzeitige Aussaat auf Blutagar unterblieb, so dass die morphologisch gleichen

Stäbchen mit negativer Gramfärbung, welche Hämoglobin zu ihrer Entwickelung brauchen, nicht gedeihen konnten. In allen anderen Fällen wurde deshalb seit dieser Beobachtung auch stets von uns eine gleichzeitige Aussaat sowohl auf Blutagar, wie auf gewöhnlichen Glycerinagar vorgenommen. Die unter C aufgeführten Stäbchen wurden von uns 2 Mal in 3 Generationen und 1 Mal in einer Generation auf Glycerinagar fortgezüchtet.

Der in der kleinen Tabelle unter B aufgeführte Bacillus, den wir in 4 Fällen gefunden haben, ist morphologisch von C und A nicht zu unterscheiden, doch färbt er sich im Gegensatz zu C nicht nach Gram. Es ist ein unbewegliches, plumpes Stäbchen von der Form und Grösse des Influenzaerregers, mit Polfärbung, welches aber bei seinem Wachsthum nicht auf hämoglobinhaltigen Nährboden angewiesen ist, sondern auch auf gewöhnlichem Glycerinagar gedeiht und zwar genau in derselben Form wie auf Blutagar, in glashellen, tröpfchenähnlichen Colonieen, welche bläulichgrau bei auffallendem Lichte sind und stark lichtbrechend bei durchscheinendem Lichte und nach einigen Tagen dort, wo sie nicht zu dicht stehen, stecknadelkopfgross und noch grösser werden können. Unter dem Mikroskop zeigen die Colonieen bei schwacher Vergrösserung nach 24 Stunden einen glatten Rand und sind gleichmässig glasig ohne deutliche Structur. Aeltere Colonieen haben in der Mitte eine feine Körnelung. Bemerkenswerth ist ferner noch, dass bei längerem Weiterzüchten die Colonieen gern confluiren zu einem graublauen Rasen und immer üppiger gedeihen. Gelatine wird nicht verflüssigt, im Stich ein zartes Wachsthum. Auf Traubenzuckeragar und Ameisenagar gedeiht er ohne Gasbildung. Lackmusmolke und Milch werden nicht verändert. Auf Kartoffeln wurde kein Wachsthum beobachtet. Auf erstarrter Ascitesflüssgkeit bildet er kleine graue Colonieen. In allen 4 Fällen, wo derselbe von uns gefunden wurde, züchteten wir ihn in vielen Generationen auf Glycerinagar fort. Wir fanden ihn 3 Mal im Keuchhustensputum und 1 Mal wurde er von uns bei einem zur Section gekommenen Keuchhustenkinde aus der bronchopneumonisch infiltrirten Lunge, ferner aus dem Eiter der weichen Häute des Gehirns und des Rückenmarkes, sowie aus blutig-serösem Pleuraexudat isolirt.

Auszug aus der Krankengeschichte.

W. K., 3 Jahre alt, seit 3 Wochen krank, schlecht genährtes, schmutziges Kind mit geringer Musculatur. Sensorium mässig benommen. Fieber bis 40·1; Puls klein, kaum zu fühlen, 150 bis 170; oberflächliche Athmung. Percussorisch rechts hinten, 8. bis 11. Rippe völlig gedämpfter, 6. bis 8. Rippe relativ gedämpfter Schall, auchin der Axillarlinie; links voller Lungenschall.

Die Auscultation ergiebt über der ganzen Lunge links und rechts vorn diffuse knarrende Rhonchi neben grossblasigen, klingenden Rasselgeräuschen. Rechts hinten unten Bronchialathmen.

Die Probepunction ergiebt blutig seröse Flüssigkeit.

Der übrige Befund interessirt nicht. Keuchhustenanfälle, nach Angaben der Mutter, sehr viel und stark in den letzten Wochen, werden nur am 1. Tage beobachtet.

In den nächsten Tagen schreitet die Infiltration der Lunge vorwärts.

14. I. Sensorium völlig benommen, Patellarreflexe nicht auszulösen; Pupillen sehr weit, reagiren auf Lichteinfall. Temporärer Nystagmus; temporärer Strabismus convergens.

16. I. Exitus letalis.

Auszug aus dem Sectionsprotocoll.

Anatomische Diagnose: Rhachitis, Pneumon. lobul. confluens lobi infer. et sup. pulmonis dextri. Pleuritis sero-fibrinosa; Tuberculosis glandularis lymphatica mesenterii; Meningitis cerebrospinalis purulenta; Otitis med. purulent. duplex. Mastoiditis purulenta.

Bakteriologischer Befund.

In dem blutig-serösen Exsudat der rechten Pleurahöhle werden mikroskopisch Lanceolatusformen mit Kapsel, daneben uncharakteristische Kurzstäbchen gefunden.

Auf mit menschlichem Blute bestrichenen Glycerinagar sind nach 24 Stunden typische Colonieen von Diplococc. lanceolatus sichtbar, daneben sehr feine, kleine, thautropfenähnliche Colonieen, welche sehr schwer zu sehen sind. Mikroskopisch sind es kleine Stäbchen mit abgerundeten Enden und Polkörnerfärbung.

Die letztbeschriebenen Formen sind weit zahlreicher, als die Colonieen von Diplococcus lanceolatus.

Auch aus dem Eiter in den Gehirn- und Rückenmarkshäuten werden neben wenigen Colonieen von Diplococcus lanceolatus zahlreiche influenzaähnliche angetroffen. Dieselben färben sich nicht nach Gram, wachsen auf Gelatine, Kartoffeln, Milch, Lackmusmolke nicht; bei täglichem Uebertragen auf Glycerinagar wird das Wachsthum immer schwächer, bis sie in der VI. Generation völlig todt sind.

Thierversuche (Meerschweinchen und Kaninchen) fallen negativ aus.

Auch in den Schnittpräparaten durch Lunge, Gehirn nnd Rückenmark werden neben dem Diplococcus lanceolatus diese influenzaähnlichen Keime gefunden.

Wir fügen hinzu, dass wir genau den gleichen Bacillus, den wir unter B in der kleinen Tabelle aufgeführt haben, auch 1 Mal aus dem Sputum eines Mannes isoliren konnten, der an Kopfschmerzen, Fieber und Husten erkrankt war.



Der dritte influenzähnliche Bacillus, den wir unter **A** in derselben Tabelle geführt haben, wurde von uns 18 Mal bei Keuchhustenfällen in Reincultur gewonnen. Dieses Stäbchen, das wir bei unseren Untersuchungen stets als Bacillus pertussis Eppendorf bezeichnet haben und auch jetzt so nennen wollen, ist morphologisch dem Vorhergehenden zum Verwechseln ähnlich. In einem Ausstrichpräparat der Reincultur erscheint es ovoid, von der Grösse des Influenzabacillus, plump, mitunter von etwas wechselnder Grösse, oft zu zweien liegend, oft auch in Haufen angeordnet (s. Taf. IX, Fig. 1). Man beobachtet hier und da einmal im Präparat einen kurzen Scheinfaden. Diese, sehr geringe, Neigung zur Scheinfädenbildung ist aber lange nicht so ausgesprochen, wie bei dem von Pfeiffer beschriebenen Pseudoinfluenzabacillus. Bei der Färbung nach Gram wird dieser Bac. pertussis entfärbt. Er ist unbeweglich. Bei schwacher Carbolfuchsinfärbung, besser noch mit Methylenblau gefärbt, giebt er deutliche Polfärbung, sodass es mitunter fast den Eindruck macht, als hätte man kleinste Diplokokken vor sich. Sein massenhaftes Auftreten im direkten Sputumausstrich von Keuchhustenkindern wurde schon Eingangs erwähnt. Für seine Weiterzüchtung auf künstlichen Nährböden ist unbedingt erforderlich, dass dieselben Hämoglobin enthalten. Dadurch unterscheidet er sich von den unter B und C in der kleinen Tabelle aufgeführten mophologisch ihm gleichen Bakterien. Auf einer mit sterilem menschlichen Placenta-Blut bestrichenen Glycerin-Agarplatte gedeiht er gut in der Gestalt tröpfchenähnlicher Colonieen, welche bei durchscheinendem Lichte stark Licht brechen, bei auffallendem Lichte zart bläulich-grau aussehen. Bei schwacher Vergrösserung zeigt sich ein glatter Rand der Colonieen, die nach 24 bis 48 Stunden so gut wie structurlos sind.

Aeltere Colonieen zeigen in der Mitte feinste Körnelung (s. Taf. IX, Fig. 2). Der Bac. pertussis Eppendorf ist sehr wenig resistent. Mitunter genügte schon das 4tägige Stehen einer Reincultur, um eine weitere Uebertragung unmöglich zu machen. In allen 18 Fällen wurden, nachdem es gelungen war, den Bacillus in Reincultur zu isoliren, Uebertragungsversuche auf hämoglobinfreien Nährböden gemacht, also auf gewöhnlichem Glycerin-Agar, Gelatine, Peptonwasser, Lackmusmolke, Bouillon, Kartoffel, Ascitesflüssigkeit. Immer war der Erfolg ein negativer, während die gleichzeitig angelegten, mit gleichen Mengen der betreffenden Reincultur beschickten Blut-Agarplatten schon meist nach 24, spätestens nach 48 Stunden ein vortreffliches Wachsthum erkennen liessen, in Gestalt eines über die ganze Platte ausgebreiteten, feinen, glitzernden Thaubelages. Die Reinculturen wurden stets in mehreren bis zu 7 Generationen fortgezüchtet. Dass dieser Bacillus, den man schon wegen seines häufigen und ausschliesslichen Vorkommens im Keuchhustenauswurf nicht ganz ohne Berechtigung für die

Aetiologie des Keuchhustens verantwortlich machen kann, kein harmloser Sputumbewohner ist, sondern für den kindlichen Körper, der ihn beherbergt, todbringend zu wirken vermag, beweisen 3 Pertussisfälle, die bei uns zur Section kamen und deren genauen Sectionsbefund wir hier folgen lassen. Bei allen 3 Fällen gelang es uns, aus bronchopneumonisch infiltrirten Lungenpartieen den beschriebenen Bacillus durch Cultur zu gewinnen und bei 2 Fällen auch mit Sicherheit im mikroskopischen Schnitt nachzuweisen. Bei der Aussaat des Inhaltes der infiltrirten Lungenbezirke wurden 1 oder 2 Oesen des blutigen Parenchymsaftes auf 2 Glycerin-Agarplatten ausgestrichen und bei 37° bebrütet. Die Aussaat auf Blutagar wurde deshalb als überflüssig unterlassen, weil die ausgesäte Flüssigkeit selbst genügend Blut enthielt. Das Resultat der Aussaat war jedes Mal ein überraschendes, denn es gelang, den Bac. pertussis Eppendorf bereits auf der Originalplatte nahezu in Reincultur zu gewinnen. Nach 24 Stunden war die Platte übersät mit den charakteristischen Thautröpfchencolonieen des Bacillus pertussis, zwischen denen nur wenige, ganz vereinzelte Colonieen des Diplococcus lanceolatus sich zeigten. Auffallend war dabei Folgendes: Während auf der ganzen Platte die Pertussiscolonieen Thautröpfchen an Thautröpfchen gediehen waren, blieb jedes Mal dort, wo eine Lanceolatuscolonie stand, in der nächsten Umgebung derselben, ein Hof frei von Pertussiscolonieen. In unmittelbarer Nähe dieses freien Hofes aber drängten sich die Pertussiscolonieen ungleich dichter als in den übrigen Theilen der Platte und confluirten sogar häufig dabei, gleichsam als gelte es, den durch den freigelassenen Bannkreis der Lanceolatuscolonie verloren gegangenen Raum durch ein üppigeres Wachsthum in der Umgebung desselben zu ersetzen (s. Taf. IX, Fig. 3). Es scheint demnach eine gewisse Antipathie zwischen dem Lanceolatus und den Pertussisbacillen zu bestehen. Wir beobachteten diesen Vorgang in mehreren Fällen.

Diese gelegentlich der 3 genannten Sectionen von Keuchhustenkindern isolirten Reinculturen von Bac. pertuss. Eppendorf wurden selbstverständlich weiterhin auch auf hämoglobinfreie Nährböden übertragen, immer mit negativem Erfolge.

Es folgen Krankengeschichte und Sectionsprotocoll der 3 secirten Keuchhustenfälle:

I. K. S. Alter $1^3/_4$ Jahr.

Klinische Diagnose: Pertussis, Rhachitis, Enteritis acuta, Drüsenfieber, Morbilli.

Aufgenommen: Am 27. März 1900.

Status: Ziemlich grosses, leidlich genährtes, anämisches, rhachitisches Kind. Pectus carinatum; Caput quadratum. Häufige, lang anhaltende, hef-

tige Hustenanfälle. Ueber beiden Lungen diffuse bronchitische Geräusche. Rechts oben hinten stellenweise crepitirendes Rasseln mit verschärftem Athmen.

Starke Drüsenschwellungen am Hals und Inguinalgegend.

30. IV. Remittirendes Fieber, Durchfälle, wiederholtes Erbrechen. Gewichtsabnahme.

28. V. Temperatur etwas gesunken. Noch immer Durchfall.

25. VII. Stark erhöhte Temperatur. Grossfleckiges zackiges Exanthem über den ganzen Körper verbreitet. Keuchhustenanfälle, Lichtscheu, Schnupfen. Stuhl normal. Auf den Lungen bronchitische Geräusche.

27. VII. Beginnende Schuppung im Gesicht.

30. VII. Durchfall.

8. VIII. Noch geringe Schuppung.

14. VIII. Häufige Durchfälle. Typische Keuchhustenanfälle 5 Mal am Tag.

18. VIII. Erbrechen. Starker Hustenparoxysmus. Ueber den Lungen grobe und feinste diffuse Rasselgeräusche. Temperatur 39°, Puls beschleunigt und schwach.

23. VII. Linkerseits hinten über dem unteren Lungenlappen deutliche Dämpfung, Bronchialathmen und feuchtes Rasseln.

27. VIII. Unter zunehmender Herzschwäche Exitus letalis.

Sectionsprotocoll.

Anatomische Diagnose: Rhachitis, Laryngitis, Bronchitis, Tracheitis. Bronchopneumoniae dext. et sin. pulm. Anaemia cordis.

Sehr magere männliche Kindesleiche mit deutlichem rhachitischen Rosenkranz, Epiphysenverdickungen und Verkrümmungen der Extremitäten.

Herzbeutel enthält einen Esslöffel voll gelblicher klarer Flüssigkeit, ist stark injicirt. Epicard frei von Veränderungen.

Herz von der Grösse der rechten Faust des Kindes; linker Ventrikel contrahirt und leer. Rechter Ventrikel und Vorhof schlaff und mit Blut stark gefüllt, enthält dicke postmortale Gerinnsel. Atrioventricularostien rechts und links durchgängig. Klappenapparate intact. Endocard nicht verdickt. Musculatur des Herzens derb und fest, sehr blass. Anfangstheil der grossen Gefässe o. B.

Linke Pleura mattglänzend, ohne sichtbare Auflagerungen; der linke untere Lungenlappen ist sehr derb, fast luftleer und zeigt zahlreiche zum Theil confluirende bronchopneumonische Heerde. Oberlappen nicht so stark verändert, bedeutend lufthaltiger. Aus den Bronchien lässt sich überall ein rein eitriges Secret ausdrücken.

Rechte Pleura mit zweipfenniggrossen $1/2$ mm dicken Fibrinauflagerungen bedeckt. Im unteren rechten Lungenlappen finden sich ebenfalls vereinzelte bronchopneumonische Heerde.

Bronchialdrüsen beiderseits stark injicirt und geschwollen. Die grösseren Bronchien, die Trachea und die Kehlkopfschleimhaut sind stark injicirt, mit reichlichem trüben Schleim bedeckt.

Oesophagus, Magen, Darmcanal o. B.

Leber zeigt partielle Anämieen, sonst o. B.



Beide Nieren von normaler Grösse. Kapsel zart, leicht abzuziehen. Nierenparenchym sehr blass, Zeichnung deutlich, sowohl auf der Oberfläche wie auf der Schnittfläche.

Milz mit deutlicher Trabekelzeichnung, von blassgraurother Farbe, ohne sichtbare Follikel, weich. Grösse $8:5:2^1/_2$.

Beckenorgane o. B.

Bakteriologischer Befund: Aussaat von Parenchymsaft aus den bronchopneumonischen Heerden ergiebt auf der Originalplatte Reincultur von Bac. pertussis Eppendorf.

Ein mikroskopisches Schnittpräparat der bronchopneumonisch infiltrirten Bezirke mit polychromem Methylenblau gefärbt und gebeizt mit Tanninorange ergiebt: Typische Desquamationspneumonie. Fast nur Alveolarepithelien. Kein Fibrin. Die durch Cultur gewonnenen Stäbchen finden sich zwischen den Epithelien verstreut, vereinzelt liegend.

II. J. G. Alter $^3/_4$ Jahr.

Klinische Diagnose: Bronchitis, Pemphigus, Morbilli, Rhachitis, Enteritis, Pertussis.

Status: 7. VI. 1900. Gut genährtes Kind. Ueber den Lungen keine Dämpfung. Diffuse feuchte Rasselgeräusche. Herz o. B. Geringes Fieber, geringer Husten, Bauchorgane o. B.

15. VI. Pemphigus am ganzen Körper, besonders stark am Kopf. Ueber den Lungen wenig Rasseln.

3. VII. Kein Husten.

18. VII. Seit einigen Tagen Temperatursteigerung. Bronchitis, Schnupfen. Geröthete Conjunctiven. Auftreten eines über den ganzen Körper verbreiteten, grossfleckigen, zackigen Masernexanthems.

18. VII. Drüsen allgemein geschwollen, nicht druckempfindlich. Intensives Masernexanthem. Conjunctivitis catarrhalis dupl. palpebrae et bulbi. Leichte katarrhalische Rhinitis. Zunge belegt. Koplik'sche Flecken. Rachen geröthet und geschwollen, kein Belag. Stimme heiser. Auf den Lungen leichte katarrhal. Bronchitis, Herz o. B. Abdomen stark tympanitisch. Intertrigo an den Oberschenkeln, Scrotum und Anus. Stuhl dünn, grün, übelriechend. Urin ohne Eiweiss und Zucker. Positive Diazoreaction.

21. VII. Beginnende Schuppung im Gesicht, kleienartig. Puls schlecht. Durchfall.

28. VII. Ekzem auf dem Kopf.

5. VIII. Starke Durchfälle.

12. VIII. Keine Schuppung mehr, Kopf fast ganz heil, keine Durchfälle, Appetit gut.

16. VIII. Befinden dasselbe.

3. IX. Ueber den Lungen weiches Athmen mit spärlichem Rasseln. In den letzten Tagen stärkerer Husten. Seit gestern Keuchhustenanfälle.



4. IX. 7 bis 8 Keuchhustenanfälle pro die. Ernährungszustand schlecht. Durchfälle.

5. IX. 8 Keuchhustenanfälle pro die.

8. IX. Collaps. Unter krampfähnlichen Zuckungen exitus letalis.

Sectionsprotocoll:

Anatomische Diagnose: Rhachitis, Laryngitis, Tracheitis, Bronchitis, Bronchopneumoniae confluentes lobi med. et. infer. pulm. dext. et lob. infer. pulmon. sin. Gastritis, Enteritis.

Sehr magere männliche Kindesleiche mit deutlichen Zeichen von Rhachitis. Pleuren frei. Pericard o. B.

Herz nicht vergrössert, linker Ventrikel contrahirt, blutleer; rechter Ventrikel schlaff und erweitert, ebenso die Vorhöfe. Klappenapparat des Herzens vollkommen intakt. Herzmusculatur sehr blass, derb, ohne makroskopisch erkennbare Veränderungen.

Die hinteren Partieen des rechten unteren und mittleren sowie des linken unteren Lungenlappens zeigen verschiedene confluirende bronchopneumonische Heerde von graubrauner Färbung. Die Lymphdrüsen am Lungen-Hilus sind geschwollen und hyperämisch. Grosse Bronchien, Trachea und Larynx sind mit glasigem zähen Schleim bedeckt und sehr stark injicirt. Halsorgane o. B.

Magenschleimhaut verdickt. Schleimhaut des Dünndarmes ebenfalls verdickt. Die Musculatur des gesammten Darmtractus ausserordentlich dünn und atrophisch.

Milz, Leber o. B.

Beckenorgane, Gehirn o. B.

Bei der Eröffnung des rechten Mittelohres zeigt sich, dass dasselbe mit einer trüben, schleimigen Flüssigkeit gefüllt ist.

Bakteriologischer Befund: Aussaat des Parenchymsaftes der bronchopneumonisch infiltrirten Partieen ergiebt nahezu in Reincultur auf den beiden Originalplatten: Bac. pertussis Eppendorf. Ganz vereinzelt finden sich zwischen den Tautropfencolonieen solche von Diplococcus lanceolatus. Im mikroskopischen Schnittpräparat der Bronchopneumonieen findet sich eine Desquamationspneumonie. Zwischen den massenhaften Alveolarepithelien und in den Zellen selbst finden sich zahlreiche Stäbchen, die als identisch anzusehen sind mit den durch das Culturverfahren gewonnenen Bacillen. Einzelne Zellen sind völlig vollgestopft davon. Die Färbung wurde vorgenommen mit polychromem Methylenblau und gebeizt mit Tanninorange (s. Taf. IX). Auch aus dem Eiter des Mittelohrs wurde der Bac. pertussis Eppendorf in Reincultur isolirt.



III. W. M. $1^3/_4$ Jahr alt.

Klinische Diagnose: Pertussis, Bronchitis diffusa, Rhachitis, Enteritis, Tuberculosis pulmonum.

Status: 14. VIII. 1900. Schlecht genährter Junge von sehr blasser Gesichtsfarbe. Augenlider geröthet, geringe Conjunctivitis, starke Drüsenschwellungen in der Inguinal-, Axillar-, Servical-, Supraclavicular- und Infraclavicular-Gegend. Rhachitischer Rosenkranz, geringe Verbiegung der Extremitäten. Fassform des Thorax, Kartoffelbauch.

Herz o. B.

Lungen: Mässige Dämpfung links hinten unten. Ueberall hinten und vorn zahlreiche Rasselgeräusche, verschärftes Exspirium. Athemfrequenz 70 pro Minute. Häufige Keuchhustenanfälle.

Milz und Leber nicht vergrössert.

Abdomen o. B. 5 Mal täglich Durchfälle.

20. VIII. Herzthätigkeit zeitweilig sehr schlecht. Ueber beiden Lungenspitzen hinten Dämpfung. Ueber beiden Lungen hinten und vorn zahlreiche Rasselgeräusche. 4 bis 5 Keuchhustenanfälle.

29. VIII. Febris continua 38°.

9. IX. Auffallender Temperaturabstieg, der den Eindruck des Collapses macht.

13. IX. Temperatur geht mit plötzlichem Aufstieg am gestrigen Tage heute bis auf 40°. Exitus letalis.

Sectionsprotocoll:

Anatomische Diagnose: Tuberculosis miliaris disseminata pulmonum, pleurae pericardii, hepatis, lienis, renum, peritonei.

Stark abgemagerte männliche Kindesleiche von rhachitischem Habitus, Bauch aufgetrieben. Dünndarm- und Dickdarmschlingen aufgebläht. Auf dem Peritoneum parietale und dem Peritoneum des Zwerchfells erkennt man vereinzelte kleine Tuberkel.

Herz: Musculatur sehr blass. Sonst Herz o. B.

Lungen: Beiderseits ödematös. Von zahlreichen miliaren und submiliaren Tuberkeln durchsetzt. An mehreren Stellen bronchopneumonisch infiltrirte Partieen. Bronchien im Innern stark geröthet, mit grauem glasigen Schleim bedeckt.

Lymphdrüsen am Lungenhilus zum Theil stark verkäst.

Trachea stark geröthet, Schleimhaut geschwollen, mit Secret bedeckt. Larynx stark injicirt.

Milz etwas vergrössert, von weicher Consistenz. Trabekel und Follikel erkennbar. Farbe dunkelroth. An mehreren Stellen graue Knötchen, sowie opakweisse grössere Heerde.

Nieren beiderseits nicht vergrössert. Rindenzeichnung deutlich. Im Mark finden sich vereinzelt submiliare Knötchen.

Leber von normaler Grösse. Kapsel etwas verdickt. Parenchym von zahlreichen grauen Knötchen durchsetzt. Pankreas, Darm, Beckenorgane o. B.

Bakteriologischer Befund: Aus dem Parenchymsaft der luftleeren bronchopneumonischen Partieen wird in Reincultur Bac. pertussis Eppendorf isolirt.



Tabelle der bakt

Eigenschaften der in Reincultur

Fortl. Nr.	Name des Falles	Beschreibung des Befundes im Ausstrichpräparat des Sputums	Form und Grösse	Gram-färbung	Bewegl keit
1	Arthur Spl. 2 Proben	Plattenepithelien. Leukocyten, massenhaft influenza-ähnliche Stäbchen. z. Th. in Haufen und Zügen, z. Th. in den Zellen liegend	plump, abgerundete Enden. Grösse des Influenzabacillus. Polfärbung	negativ	unbew lich
2	Bornk.	Plattenepithelien, mono- u. polynucleäre Leukocyten, ausgestrichene Kerne, Diplokokken. Massenhaft der ovoïden Kurzstäbchen in Nestern und Zügen	plump, influenzaähnlich	„	„
3	Wally K. S. Sectionsbefund	—	feine, kleine Stäbchen von der Grösse der Influenzabacillen. Kürzere u. längere Formen. Polfärbung	„	„
4	S. Renk. 3 Proben mit demselben Resultat	keine Leukocyten. Grosse Stäbchen mit abgerundeten Enden. Schlanke lange Stäbchen. Bac. anthracoides, viel influenzaähnliche	plumpe, influenzaähnliche Stäbchen	„	„
5	Klahr	Leukocyten. Viel Hefezellen, ovoid, rund, auch z. Th. spitz auslaufend, Streptokokken, Lanceolatus, influenzaähnl. Bacillen	Grösse des Influenzabacillus, vielfach zu zweien liegend. Eiformig. Polfärbung	„	„
6	Konow	poly- und mononucleäre Leukocyten. Ausgestrichene Kerne. Lanceolatus. Massenhaft influenzaähnl. Stäbchen	wie Influenzabacillen	„	„
7	Sonderm.	Lanceolatus, Staphylokokken. Streptokokken. influenzaähnliche Stäbchen	„ „	„	„
8	Jürgens 2 Proben mit gleich. Befund	in der Hauptsache influenzaähnliche Stäbchen	„ „	„	„
9	Lamprecht	Lanceolatus, influenzaähnl. Stäbchen in Masse	„ „	„	„
10	Opkenot 3 Jahre	in der Hauptsache influenzaähnliche Stäbchen	„ „	„	„
11	Opkenot 7 Jahre	massenhaft influenzaähnliche Stäbchen	„ „	„	„
12	Hans Kell.	viel der Influenza ähnliche Bacillen	„ „	„	„

[..]logischen Befunde.

[..]irten influenzaähnlichen Stäbchen.

Wachsthum auf Blutagar	Wachsthum auf Glycerinagar	Wachsthum auf Gelatine	Wachsthum auf Ascitesserum	Wachsthum auf Ameisenagar	Wachsthum auf Milch und Lackmusmolke
[..]tark lichtbrechende, [..]sehr kleine thautröpfchenähnliche Colonieen	—	—	—	—	—
Thautropfen	—	—	—	—	—
Thautropfen. Später [..]bis stecknadelkopf[..]gross. Blaugrau. Unter [..]Confluenz später immer [..]üppiger wachsend	wie auf Blutagar	zartes Wachsthum, nicht verflüssigend	kleine graue Colonieen	zarter Stich, ohne Nagelkopf	ohne den Nährboden zu verändern.
Thautröpfen	—	—	—	—	—
Thautropfen. Lichtbrechend im durchscheinenden, blau im auffallenden Licht. Rand der Colon. glatt	wie auf Blutagar	zarter Stich, nicht verflüssigend	kleine graue Colonieen	zartes Wachsthum	ohne den Nährboden zu verändern.
Thautropfen	—	—	—	—	—
"	—	—	—	—	—
Thautropfen, viele Generationen	—	—	—	—	—
Thautropfen, 5 Generationen	—	—	—	—	—
Thautropfen	—	—	—	—	—
"	—	—	—	—	—
"	—	—	—	—	—

Tabelle der bakter[...]

Eigenschaften der in Reincultur [...]

Fortl. Nr.	Name des Falles	Beschreibung des Befundes im Ausstrichpräparat des Sputums	Form und Grösse	Gram-färbung	Beweglic[h]keit
13	v. Deyk	viel Leukocyten, Diplokokk., influenzaähnliche Stäbchen	influenzaähnlich. Etwas wechselnde Grösse. Vereinzelte Scheinfäden	negativ	unbewe[g]lich
14	Engelke	Leukocyten, Diplokokken, Kettenkokken, viel influenzaähnliche Stäbchen	wie Influenzabacillen geringe Scheinfädenbildung	,,	,,
15	Kühn	mono- und polynucleäre Leukocyten, Lanceolatus, viel influenzaähnl. Stäbchen	wie Influenzabacillen	,,	,,
16	Sigmann. Siehe auch Sectionsbefd.	—	feine, zarte influenzaähnl. Stäbchen von wechselnder Grösse. Geringe Neigung zur Scheinfädenbildung	,,	,,
17	Guraschek	viel influenzaähnl. Stäbchen neben Lanceolatus	wie Influenzabacillen	,,	,,
18	Jöns	viel influenzaähnl. Stäbchen	,, ,,	,,	,,
19	Gursch. Siehe auch Sectionsbefd.	—	wie Influenzabacillen. Etwas wechselnde Grösse. Geringe Scheinfädenbildung	,,	,,
20	Meyer. Siehe auch Sectionsbefd.	—	wie Influenzabacillen	,,	,,
21	Qualm.	Leukocyten. Ausgestrichene Kerne. Kleine rundliche bis ovale Gebilde, die kleiner sind als rothe Blutkörperchen und sich intensiv färben mit Methylenblau. Kettenkokk. Influenzaähnliche Stäbchen in überwiegender Menge	wie Influenzabacillen. Polfärbung	positiv	,,
22	Dohrend	viel influenzaähnl. Bacillen	wie Influenzabacillen	,,	,,
23	Heid	Leukocyten. Ausgestrichene Kerne. Hefeähnl. Gebilde. Kettenkokken. Kurze influenzaähnliche Stäbchen	Grösse des Influenzabacillus. Vereinzelte Scheinfädenbildung	negativ	,,
24	Luise Nussbaum	Leukocyten. Rothe Blutkörperchen. Plattenepithelien. In Haufen liegende influenzaähnliche Stäbchen	wie Influenzabacillen	,,	,,
25	Jack	Leukocyten, Streptokokken. Nach Gram färbbare Stäbchen von der Grösse des Influenzabacillus.	,, ,,	positiv	,,

gischen Befunde.

ten influenzaähnlichen Stäbchen.

Wachsthum auf Blutagar	Wachsthum auf Glycerinagar	Wachsthum auf Gelatine	Wachsthum auf Ascitesserum	Wachsthum auf Ameisenagar	Wachsthum auf Milch und Lackmus-molke
hautropfen, ältere olonieen sehr zarte rnelung in d. Mitte	—	—	—	—	—
Thautropfen	—	—	—	—	—
„	—	—	—	—	—
„	—	—	—	—	—
„	—	—	—	—	—
„	—	—	—	—	—
Thautropfen, ältere Colonieen geringe Körnelung	—	—	—	—	—
Thautropfen	—	—	—	—	—
Thautropfen, sehr kleine wasser-klare Colonieen	wie auf Blut-agar in 3 Generationen	ja, nicht ver-flüssigend	ja	ja	ohne den Nährboden zu verändern
Thautropfen	wie auf Blutagar	„	ja	„	„
„	wie auf Blut-agar in 3 Generationen	„	feine, graue, runde Colonieen	„	„
„	wie auf Blut-agar in 5 Ge-nerat. üppig wachsend	„	ja	„	„
„	wie auf Blut-agar in 3 Generationen gezüchtet	„	ja	„	„

Sputa ohne influenzaähnliche Bakterien.

Nr.	Name	Befund im Ausstrichpräparat	Colonieen auf der Blutagarplatte
26	Sauer	Leukocyten, Lanceolatus, Haufenkokken, Kettenkokk., Pseudomilzbrandbacillen	grosse gelbe Colonieen: Kokken kleine blaue „ : Lanceolatus kleine grauweisse „ : Streptococcus Pseudomilzbrandcolonieen
27	Ludw. Keller	Leukocyten, Streptokokken, Lanceolatus	gelbe grosse Colonieen: Kokken kleine grauweisse „ : Streptococcus kleine graublaue „ : Lanceolatus
28	Kaletzky	Lanceolatus, Haufenkokken, Kettenkokken	gelbgraue Colonieen: Sarcinen wulstige gelbe „ : Kokken graublaue „ : Lanceolatus
29	Engelmann	Lanceolatus, Kettenkokken, Haufenkokken	graue Colonieen: Lanceolatus grauweisse „ : Streptococcus gelbe „ : Haufenkokken
30	Heilhoff	Pseudomilzbrandbacillen, Ketten- und Haufenkokken, Lanceolatus	milzbrandähnl. Colon. : Pseudomilzbrandbacillen grauweisse „ : Streptococcus gelbe „ : Kokken
31	Wölke	Leukocyten, Diplokokken, feine schwache Stäbchen	Platte steril geblieben

Ehe wir dazu schreiten, die Resultate unserer Untersuchungen so objectiv wie möglich mit dem der anderen Forscher zu vergleichen, müssen wir noch diejenigen Fälle erwähnen, in denen wir keinerlei Bakterien der besprochenen influenzaähnlichen Form gefunden haben. Wir haben auch diese 6 Fälle in unserer Tabelle aufgenommen, um ein möglichst ungeschminktes Bild der Resultate bei systematischen Untersuchungen des Auswurfes von Keuchhustenkindern zu bekommen. Wir sahen in diesen Fällen im Ausstrichpräparat diejenigen Bakterien, die wir auch sonst neben dem Bac. pert. Eppend. gefunden haben, also Lanceolatus, Kettenkokken und Haufenkokken. Auf der mit dem Auswurf beschickten Platte waren die diesen Bakterien entsprechenden Colonieen zahlreich vertreten, doch fehlten die Thautröpfchencolonieen. Man könnte nun annehmen, dass der zur Aussaat verwendete Auswurf, der in diesen Fällen besonders spärlich war, nicht aus den tieferen Luftwegen stammte, sondern einfach Mundspeichel war, den die Kinder von sich gaben, nachdem der Hustenanfall selbst keine Sputumpartikelchen aus den tiefer gelegenen Stellen zu Tage gefördert hatte. Uns genügt es, diese Fälle zu erwähnen, um gleichzeitig auch anzudeuten, dass es mitunter auf erhebliche Schwierigkeiten stösst, eindeutige Resultate bei der Untersuchung des Keuchhustensputums zu erlangen, der vielen Fälle nicht zu gedenken, wo das



im Anfall erfolgende Erbrechen der Kinder eine bakteriologische Untersuchung von vornherein unmöglich macht. Es sei an dieser Stelle daran erinnert, dass Cohn und Neumann u. A. überhaupt keine influenzaähnlichen Stäbchen im Keuchhustenauswurf gesehen haben.

III. Kritische Uebersicht über die Resultate.

Wenn wir nun versuchen, uns ein Urtheil über die von uns gewonnenen Resultate zu bilden, so scheint uns zunächst ein Umstand von besonderer Wichtigkeit, dass wir drei einander morphologisch zum Verwechseln ähnliche Bakterien gefunden haben, welche sich durch ihre biologischen Eigenschaften und ihr Verhalten der Gramfärbung gegenüber unterschieden. Wir sind überzeugt, dass die nämlichen drei influenzaähnlichen Bakterien von einer ganzen Reihe von Forschern im Ausstrichpräparate von Keuchhustensputum gesehen worden sind, müssen nun aber annehmen, dass man diese drei nur morphologisch einander gleichen, thatsächlich aber verschiedenartigen Stäbchen stets als dasselbe Bakterium angesprochen hat. Nur so kann man die ungemein auseinandergehenden Angaben der Autoren über die biologischen Eigenschaften bezw. der Gramfärbung jenes ovoïden Kurzstäbchens erklären, dessen morphologische Charakteristika im gefärbten Ausstrichpräparate auffallender Weise mit ziemlicher Uebereinstimmung von den Untersuchern angegeben werden. Jenes Kurzstäbchen, das Czaplewski und Hensel, Vincenzi, Spengler, Zusch und Luzatto im Ausstrichpräparate gesehen haben und das allgemein als influenzaähnlich bezeichnet wird, ist eben nach unserer Ansicht einmal das von uns als Bac. pertussis Eppendorf beschriebene Kurzstäbchen mit negativer Gramfärbung und dem ausschliesslichen Wachsthum auf hämoglobinhaltigen Nährböden, ein ander Mal das morphologisch ihm gleiche Bacterium mit dem weniger anspruchsvollen Wachsthum, auch auf anderen Nährböden, ein drittes Mal das Kurzstäbchen mit positiver Gramfärbung und dem Wachsthum auch auf hämoglobinfreien Nährsubstraten.

Wenn Czaplewski den von ihm im Keuchhustensputum gesehenen Bacillus als ein unbewegliches, auf allen Nährböden wachsendes, morphologisch influenzaähnliches Stäbchen beschreibt, so geben wir zu, dass auch wir dasselbe in 4 Fällen aus Keuchhustensputum isoliren konnten, und zwar nehmen wir an, dass der von uns unter B in der kleinen Tabelle aufgeführte Bacillus der von Czaplewski beschriebene ist. Wir haben denselben Bacillus, wie erwähnt, auch in den Organen eines zur Section gekommenen Keuchhustenkindes gefunden. Wir sind nicht ge-



neigt, dem von Czaplewski beschriebenen Bacillus eine specifische Bedeutung für die Aetiologie des Keuchhustens beizumessen, da wir ihn nur bei 4 Fällen in Reincultur isoliren konnten und da wir ihn auch im Sputum gesehen haben, welches nicht von Keuchhustenkindern herrührte. Wir halten ihn jedoch für einen immerhin nicht gleichgültigen Sputumbewohner, der unter Umständen eine Bronchopneumonie verursachen und dadurch zum Tode führen kann.

Der zweite von uns gefundene influenzaähnliche Bacillus, der sich charakterisirte durch positive Gramfärbung und Wachsthum auf allen, auch hämoglobinfreien Nährböden, hat bereits oben seine Besprechung gefunden.

Was nun den von uns als Bacillus pertussis Eppendorf beschriebenen influenzaähnlichen Bacillus betrifft, der sich im Gegensatz zu allen von den anderen Autoren angegebenen ähnlichen Bakterien dadurch auszeichnet, dass er ausschliesslich nur auf hämoglobinhaltigen Nährsubstraten gedeiht, so haben wir denselben in 18 Fällen isolirt, darunter 3 Mal aus bronchopneumonisch infiltrirten Lungen von Keuchhustenkindern, die zur Section gekommen waren. Es hatte nach diesen Befunden für uns etwas sehr Verführerisches, anzunehmen, dass diesem Bacillus bei der Uebertragung des Keuchhustens eine specifische Rolle zukomme. Wir haben indessen für's Erste nicht die Absicht, denselben als den Erreger des Keuchhustens zu proclamiren, weil wir der Ansicht sind, dass es mehr im Interesse einer Klärung dieser schwierigen Frage liegt, möglichst objectiv erhobene Befunde zu registriren, als auf Grund einiger weniger Beobachtungen ein abschliessendes und darum meist voreiliges Urtheil abzugeben.

Es hat sich bei unseren Untersuchungen gezeigt, dass es ein Fehler ist, die Aussaat des Keuchhustensputums auf Blutagar zu unterlassen. Czaplewski u. Hensel, Ritter u. A. geben an, dass die von ihnen gesehenen Bakterien auf allen Nährböden gedeihen; von einer Aussaat auf hämoglobinhaltige Nährsubstrate wird vielfach gar nicht gesprochen. Es genügt aber eine Aussaat des Keuchhustensputums auf gewöhnlichem Glycerinagar nicht, wenn man ein vollkommenes Bild der Bakterienflora im Pertussisauswurf erhalten will. Beweis: der von uns so häufig isolirte ausschliesslich auf hämoglobinhaltigem Nährboden wachsende Bac. pertussis Eppendorf.

Dass thatsächlich beide Bakterien neben einander im Sputum vorkommen können, der Czaplewski'sche auf allen Nährböden wachsende und der Bac. pertussis Eppendorf, vermochten wir auch durch den Culturversuch zu beweisen. In einem unserer Fälle, bei dem wir den Auswurf, wie gewöhnlich, sowohl auf Glycerinagar wie auf Blutagar gesät hatten, gedieh auf beiden Platten ein glitzernder Thaubelag. Die auf Glycerin-

agar gewachsenen Bacillen gediehen auch weiterhin auf hämoglobinfreien Nährböden. Als wir aber von einer auf der Blut-Agarplatte gewachsenen Thautropfencolonie auf gewöhnlichen Glycerinagar weiter übertragen wollten, gelang dies nicht. Erst als die Original-Blutagarplatte 3 Tage alt war, konnte man erkennen, dass beide influenzaähnliche Stäbchen darauf vertreten waren, indem der eine Theil der Colonieen unter Confluenz immer üppiger wuchs als blaugrauer Rasen, während der andere Theil in seinem Wachsthum mehr beschränkt blieb. Und es stellte sich dann heraus, dass erstere auch auf hämoglobinfreien Nährböden gediehen, letztere nur auf hämoglobinhaltigen.

Dass der von uns im Keuchhustensputum gesehene, in 18 Fällen in Reincultur isolirte Bac. pertussis Eppendorf kein gewöhnlicher Sputumbewohner ist, scheint uns schon daraus hervorzugehen, dass wir ihn nie bei Sputumaussaaten von nicht an Keuchhusten leidenden Kranken gesehen haben. Nachdem wir ihn nun 3 Mal in Reincultur auch aus bronchopneumonisch infiltrirten Lungen von zur Section gekommenen Keuchhustenkindern gewonnen hatten, lag es uns daran, festzustellen, ob er nicht etwa auch in bronchopneumonischen Lungenheerden gefunden werden könnte von Kindern, welche nicht an Keuchhusten erkrankt waren. Es wurde deshalb bei 7 verschiedenen Kindersectionen, bei denen Bronchopneumonien gefunden waren (ausgeschlossen blieben Fälle, bei denen gleichzeitig Tuberculose der Lungen vorhanden war), Aussaaten der infiltrirten Lungenbezirke gemacht und niemals ward der gleiche Bacillus gesehen.

Die von uns verschiedentlich gemachten Uebertragungsversuche des Bac. pert. Eppend. auf Thiere blieben erfolglos. Es wurde dabei meistentheils so verfahren, dass eine grössere Menge der Reincultur des Bacillus in die Nase des betreffenden Thieres gebracht und dort verrieben wurde. Wir verwendeten dazu Meerschweinchen, Kaninchen und 2 junge Hunde. Da aber auch Uebertragungsversuche des Keuchhustensputums selbst auf Thiere der gleichen Art keinerlei keuchhustenähnliche Symptome einzulösen vermochten, so versprechen wir uns überhaupt nicht viel von derartigen Experimenten, sondern sind der Ansicht, dass die bei der Uebertragung des Keuchhustens in Betracht kommenden Erreger nur für den Menschen eine specifische Bedeutung haben. Auch subcutane und peritoneale Verimpfungen des Bac. pertussis Eppend. auf weisse Mäuse übten keinerlei pathogene Wirkung auf diese Thiere aus.

Wenn wir nun noch einmal zusammenfassend die Ergebnisse der verschiedenen Untersucher unter einander vergleichen, so müssen wir sagen, dass wohl noch keines der für die Aetiologie des Keuchhustens verantwortlich gemachten Bakterien mit voller Sicherheit als Erreger an-

gesprochen werden kann und zwar deswegen, weil die Befunde so auffallend auseinandergehen. Mit grosser Wahrscheinlichkeit sind es influenzaähnliche Stäbchen, welche eine Rolle bei der Uebertragung spielen, denn in den letzten Jahren häufen sich diejenigen Angaben, welche berichten, dass ein Ausstrichpräparat des Keuchhustensputums in überwiegender Menge derartige influenzaähnliche Stäbchen gesehen worden sind. Dass die Ansichten über die biologischen Eigenschaften des betreffenden Bacteriums so verschieden sind, scheint uns an dem Mangel einer einheitlichen Untersuchungsmethode zu liegen. So lange der eine Untersucher nur gewöhnlichen Agar verwendet bei der Aussaat des Sputums auf eine Originalplatte, der andere nur Blutagar und nur hier und da einmal gleichzeitige Aussaaten auf hämoglobinfreie und hämoglobinhaltige Nährböden vorgenommen werden, so lange kann selbstverständlich eine Einigung über die biologischen Eigenthümlichkeiten der im Ausstrichpräparate gesehenen Kurzstäbchen nicht erzielt werden. Es scheint uns demnach ein beachtenswerthes Resultat unserer Untersuchungen zu sein, festgestellt zu haben, dass verschiedene influenzaähnliche Stäbchen im Keuchhustensputum vorkommen, von denen die einen auf hämoglobinfreien Nährböden gedeihen, die anderen nur auf hämoglobinhaltigen, und damit den Beweis dafür gebracht zu haben, dass es nicht genügt — selbst wenn man Tausende von Agarplatten mit Pertussissputum beschickt — den Auswurf nur auf gewöhnlichen Agar auszusäen, sondern dass die Aussaat auf Blutagar ein unbedingtes Erforderniss ist. Wenn regelmässiges und ausschliessliches Vorkommen eines Bacillus bei einer bestimmten Erkrankung zwei der hauptsächlichsten von Koch geforderten Momente sind, welche die Annahme gestatten, dass der betreffende Bacillus für die Aetiologie dieser Krankheit eine specifische Bedeutung habe, so käme nach unseren Befunden mit einiger Berechtigung der von uns als Bac. pertussis Eppendorf beschriebene Bacillus in Betracht, da wir ihn in 31 Fällen 18 Mal gefunden haben und wir Grund haben anzunehmen, dass wir ihn auch in den ersten 4 Fällen bekommen hätten, wenn von uns schon damals die gleichzeitige Aussaat auf Blutagar vorgenommen worden wäre. So lange jedoch nicht ein grösseres Untersuchungsmaterial dieselben Befunde liefert und vor Allem die Nachforschungen anderer Untersucher nicht dieselben Resultate ergeben, wollen wir nicht in den oft gemachten Fehler verfallen, nun unter Ausserachtlassung aller anderen vielleicht ebenso wichtigen Momente, dem einen, gerade von uns gesehenen Bacillus eine dominirende Bedeutung einzuräumen.

Und wenn auch das Rechenexempel richtig ist, dass in der Mehrzahl der Fälle dieser Bacillus von uns gesehen wurde, so war doch die Probe auf das Exempel nicht zu machen möglich, weil wir die Ueber-



tragungsfähigkeit auf andere Individuen nicht erweisen können. Wir besitzen eben kein Versuchsthier, bei welchem sich durch Uebertragung von Bacillen keuchhustenähnliche Symptome auslösen lassen. Die im positiven Sinne gedeuteten Versuche von Afanasieff dürften bereits ihre kritische Würdigung gefunden haben.

Wie dem aber auch sei, ob ein influenzaähnliches Stäbchen wie der Bac. pert. Eppend. bei der Uebertragung des Keuchhustens in Betracht komme oder ob vielleicht das Zusammentreffen mehrerer Bakterien wie z. B. eben dieses Kurzstäbchens mit dem Lanceolatus ein auslösendes Moment für die eigenthümlichen Symptome des Keuchhustens darstellen, nur einheitliche Untersuchungmethoden und übereinstimmende Resultate möglichst zahlreicher Untersuchungen vermögen die Entscheidung herbeizuführen.

Die Ergebnisse unserer Arbeit sind kurz folgende:

1. Im Keuchhustensputum finden sich in der Mehrzahl der Fälle kleinste influenzaähnliche Bacillen.

2. Diese morphologisch sich gleichen Bacillen gehören nicht einer Species an, sondern es giebt drei verschiedene Arten, die sich biologisch bezw. durch ihr Verhalten der Gramfärbung gegenüber unterscheiden.

3. Daraus erklären sich die aus einandergehenden Ansichten der Untersucher über die biologischen Eigenschaften des im Ausstrichpräparat gesehenen Stäbchens.

4. Wir halten den von Czaplewski und Hensel angegebenen Bacillus nicht für den Erreger des Keuchhustens, weil wir denselben nur in 4 Fällen im Sputum gesehen haben, und weil von diesen Untersuchern methodische Aussaaten auf Blutagar unterlassen worden sind.

5. Wir haben in 18 Fällen, darunter bei 3 Sectionen, ein influenzaähnliches Stäbchen isolirt, welches im Gegensatz zu allen ähnlichen von den Autoren angegebenen Bacillen ausschliesslich auf hämoglobinhaltigen Nährböden gedeiht, und das wir als Bacillus pertussis Eppendorf bezeichnen.

Zum Schlusse gestatten wir uns auch an dieser Stelle Hrn. Director Prof. Dr. Rumpf für die Ueberlassung des Materials, welches seiner Abtheilung entstammte, unseren ergebensten Dank zu sagen.

Hamburg-Eppendorf, 6. December 1900.



Litteratur-Verzeichniss.

1. Sticker, Nothnagel's *Specille Pathologie und Therapie.* Bd. IV.

2. Linné, citirt bei Vogel, *Verhandlungen des Congresses für innere Medicin.* 1887.

3. Rosén v. Rosenstein, *Ebenda.*

4. Poulet, *Compt. rend. de l'Académie des sciences.* 1867.

5. Janssen, *Dissertation.* Bonn 1868.

6. Ransome, Memoirs of the Liter. and Pholosoph. *Soc. of Manchester.* 1870. Vol. IV. — Siehe Vogel, a. a. O.

7. Letzerich, Virchow's *Archiv.* 1870. Bd. IL. — 1873. Bd. LVII. — 1878. Bd. LX.

8. Henke, *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1874. Bd. XII.

9. Birch-Hirschfeld, *Centralzeitung für Kinderheilkunde.* 1879.

10. Tschamer, *Jahrbuch für Kinderheilkunde.* 1876.

11. Rossbach, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1880. — *Allgem. med. Centralzeitung.* 1880.

12. Deichler, Ueber parasitäre Protozoën im Keuchhustenauswurf. *Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie.* 1886. Bd. XLIII. — Referat Baumgarten's *Jahresberichte.* 1886. Bd. II.

13. Derselbe, Weitere Mittheilungen über parasitäre Protozoën im Keuchhustenauswurf. *Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie.* 1889. Bd. XLVII. — Ref. Baumgarten's *Jahresberichte.* 1889. Bd. IV.

14. Kurloff, Keuchhusten-Parasiten. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* 1895.

15. Behla, Zur Aetiologie der Tussis convulsiva. *Deutsche med. Wochenschr.* 1898. Bd. XXIV.

16. Moncorvo et Aronja, *De la nature de la coqueluche etc.* Rio de Janeiro. 1883.

17. Barlow and Broudbent, *The Lancet.* May 1886.

18. Haushalter, Trois cas d'infection par le staphylocoque doré dans le cour de la coqueluche. *Archiv de méd. expériment.* 1890. Nr. 5. — Ref. Baumgarten's *Jahresberichte.* 1890. Bd. III. S. 98.

19. Mircoli, Le alterazioni renali nella pertosse. *Archivo per le scienze mediche.* 1890. — Referat Baumgarten's *Jahresberichte.* 1890.

20. Ritter, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1892. Nr. 50. — *Ebenda.* 1896. Nr. 47/48. — *68. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte.* Wiesbaden.



21. Buttermilch, Ueber den Erreger des Keuchhustens. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 17.

22. Burger, *Ebenda.* 1883.

23. Hagenbach, *Congress für innere Medicin.* 1887.

24. Afanassiew, Ueber die Aetiologie und klinische Bakteriologie des Keuchhustens. *Petersburger med. Wochenschrift.* 1887. Ref. Baumgarten's *Jahresber.*

25. Szemetschenko, Zur Frage der Keuchhustenbakterien. *Ebenda.* 1888. Nr. 23.

26. Wendt, Recent views reganding the pathology and treatment of pertussis. *Bost. med. News.* 1888.

27. von Genser, Zur Pathologie und Therapie des Keuchhustens. *Wiener med. Wochenschrift.* 1888.

28. H. Koplik, The bacteriology of pertussis. *British med. Journ.* 1897.

29. Czaplewski und Hensel, Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 37.

30. Zusch, Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. *Münchener med. Wochenschrift.* 1898. Nr. 23. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Nr. 20/21.

31. A. Cavasse, *Sur la coqueluche.* Paris 1888. — Citirt nach Czaplewski, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Nr. 7/8.

32. Koplik, The bacteriology of pertussis. *St. John Hopkins Hospital Bull.* 1898. Nr. 85. — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Nr. 8/9..

33. C. Spengler, Bakteriologische Untersuchungen bei Keuchhusten. Bemerkungen zu dem Czaplewski-Hensel'schen Aufsatz. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 52.

34. Czaplewski, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII. Nr. 23. — — *Deutsche med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 14. (Erwiderung an Spengler.) — *Ebenda.* 1899. Nr. 19. (Erwiderung an Vincenzi.) — *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Bd. XXIV. Nr. 7/8. (Erwiderung an Buttermilch und Ritter.)

35. Arnheim, Beitrag zur Bakteriologie des Stickhustens. *Berliner med. Gesellschaft.* Sitzung vom 14. Februar 1900.

36. Vincenzi, Zur Aetiologie der Tussis convulsiva. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 40.

37. Elmassian, Note sur un bacille des voies respiratoires et ses rapports avec le bacille de Pfeiffer. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.

38. Luzzatto, Zur Aetiologie des Keuchhustens. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1900. Bd. XXVII.



Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IX.)

Fig. 1. Bac. pertussis Eppendorf in Reincultur. 24 Stunden bei 37°. Gefärbt mit Carbol-Fuchsinlösung 1:10. Vergrösserung 1000:1.

Fig. 2. Glycerin-Blutagarplatte mit Colonieen des Bac. pertussis Eppendorf und einer Lanceolatus-Colonie im linken oberen Quadrantum. Erhalten durch Aussaat von Parenchymsaft aus bronchopneumonisch infiltrirten Lungenpartieen eines zur Section gekommenen Keuchhustenkindes. 2 Tage bei 37°. Vergrösserung 20:1.

Fig. 3. Glycerin-Blutagarplatte mit Reincultur von Bac. pertussis Eppendorf. 4 Tage bei 37°. Vergrösserung 20:1.

Fig. 4. Mikroskopischer Schnitt durch bronchopneumonisch infiltrirte Partie der Lunge eines Keuchhustenkindes. Gefärbt mit polychromem Methylenblau, gebeizt mit Tannin-Orange. Bac. pertussis Eppendorf theils frei, theils in Zellen liegend. Vergrösserung 1000:1.



[Aus dem Institut für medicinische Chemie und Hygiene zu Göttingen.]

Die Verbreitung von Keimen durch gewöhnliche Luftströme.

Von

Robert F. Hutchison, M. D. D. F. H.
aus Schottland.

Es kann heutzutage keinem Zweifel mehr unterliegen, dass in unseren Wohnräumen eine ganze Reihe von Infectionskrankheiten durch feinste keimbeladene Staub- oder Wassertheilchen gelegentlich übertragen werden; allerdings wie häufig dies geschieht, ist schwer zu sagen.

Es liegen zwar experimentelle Arbeiten vor, die gerade über diese Art der Infection Aufklärung zu verbreiten gesucht haben, aber erschöpfend ist die Frage jedenfalls noch nicht behandelt worden.

Auch über die Verbreitung infectiöser Keime in der freien Luft liegen Experimente, wenn auch nur in spärlicher Anzahl, vor. So konnte Fischer[1] nachweisen, dass weiter als 70 bis 120 Seemeilen vom Lande aus Keime über das Wasser nicht gelangen und Mareau und Miquel stellten fest[2], dass 100 ^{km} von der Küste die Seeluft frei von Landkeimen ist. Aber bei so grossen Entfernungen spielt natürlich auch die Verdünnung eine bedeutende Rolle, so dass Infectionen in diesen Fällen zu den grössten Curiosis zu rechnen wären. Anders liegen die Verhältnisse auf dem Lande, hier sind die Entfernungen von Haus zu Haus oft nur gering und ich werde im Folgenden nachweisen, dass da in der That Uebertragungen von Keimen sehr wohl möglich sein können.

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. I. S. 410.

[2] *Annuaire de l'observatoire de Montsouris.*



Meine Untersuchungen behandeln aber nicht diese Frage allein, ich habe auch weiter nachzuweisen versucht, welche Pfade in die Luft gelangte Keime in geschlossenen Räumen einzuschlagen pflegen und bis wohin sie eventuell unter günstigen, sowie ungünstigen Bedingungen gelangen können.

So untersuchte ich die Verbreitung der Keime von einem Zimmer zu benachbarten und entfernteren durch verschiedene Stockwerke hindurch, durch Fenster, Thüren, Spalten von Schränken und Schubladen hindurch, das Eindringen derselben in Bücher, Fussbodenritzen u. s. w.

Daran schlossen sich Versuche über die Haltbarkeit von Keimen, die sich abgesetzt hatten, und die Bedingungen, unter denen sie wieder in die Zimmerluft gelangen können, z. B. durch Gehen auf dem Fussboden, durch Fegen, durch Klopfen und Bürsten, inficirte Röcke u. dergl. Eine Reihe dieser Fragen sind gerade in letzter Zeit von einer ganzen Anzahl von Forschern bereits studirt worden, ich nenne nur die Arbeiten von Flügge[1], Germano[2], Weismayer[3], Engelmann[4], Buchner[5], Neisser[6], Heymann[7], Cadeac et Maillet[7], Laschtschenko[7], Koeniger.[8]

Wir wissen aus diesen Versuchen, dass namentlich durch feines Verstäuben von Flüssigkeiten Keime für längere Zeit in Zimmerluft sich halten können, wir wissen ferner, dass, wenn sich diese Keime dann schliesslich abgesetzt haben, sie sich nur durch verhältnissmässig starke Luftströmungen in die Luft wieder erheben können, aber wie oft namentlich Letzteres in praxi der Fall ist, darüber liegt meines Wissens noch nicht viel Positives vor.

Ich möchte daher meine Versuche gleichsam als Ergänzung zu den oben angeführten Arbeiten angesehen wissen.

Was nun die Ausführung meiner Versuche betrifft, so inficirte ich mir zunächst meine Luft mit einer wässerigen Prodigiosusaufschwemmung, die durch einen Sprayapparat als feinster Nebel versprüht wurde, und zwar wurden stets 3 bis 5 Oesen einer frischen Agarprodigiosuscultur in 70 ccm Wasser aufgeschwemmt, wovon dann ca. 40 ccm jedes Mal in Kopf-

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV.
[2] *Ebenda.* Bd. XXVI.
[3] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1898.
[4] *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXV.
[5] *Archiv für Hygiene.* Bd. VIII u. Bd. XXXVI.
[6] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVII.
[7] *Ebenda.* Bd. XXX.
[8] *Ebenda.* Bd. XXXIV.



höhe versprayt wurden. Die Keime wurden nach dem Versprayen auf offenen Agar oder Gelatineschälchen aufzufangen versucht und die ja leicht erkennbaren Prodigiosuscolonieen in der Regel nach ihrer Entwickelung gezählt; bei grosser Anzahl von Colonieen begnügte ich mich auch wohl nur mit der Schätzung der Anzahl. Die Versuche selbst wurden, soweit sie nicht im Freien stattfanden, im hygienischen Institut gemacht. Dasselbe schien für die Versuche besonders geeignet, da es, ursprünglich ein Hospital, einen langen Corridor (53·4 m) enthält, der von einem Ende des Gebäudes zum andern läuft, und auf welchen verschiedene Zimmer von beiden Seiten her münden. Von diesem Corridor und mehreren der anliegenden Zimmer konnte ohne Weiteres Gebrauch gemacht werden.

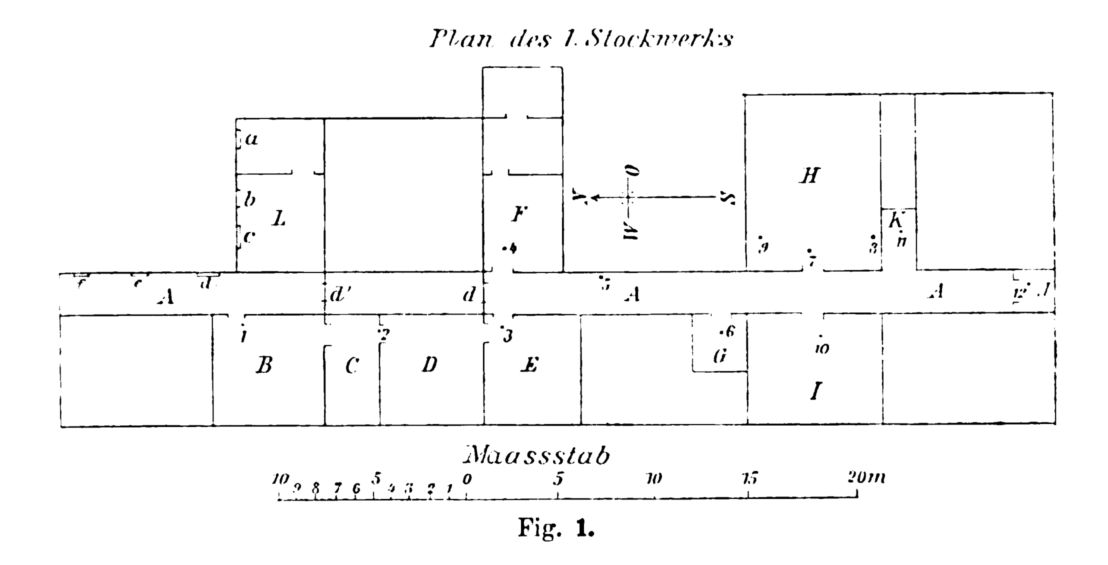


Fig. 1.

Ueberdies wurden Zimmer in zwei Stockwerken, die über und unter diesem Corridor belegen waren, mit in Benutzung gezogen, so dass der Weg der Keime von Zimmern in einem Stockwerk zu Räumen in einem anderen entweder durch die diese Stockwerke verbindenden Treppen oder von Zimmern in einem Stockwerk durch offene Fenster in die freie Luft und wieder hinein durch offene Fenster in Zimmer auf darüber oder darunter befindlichen Stockwerken verfolgt werden konnte. Das beigefügte Diagramm zeigt einen Plan dieses Corridors und einiger im Laufe der Versuche benutzten Zimmer.

Ich lasse nunmehr die Beschreibung der angestellten Versuche im Einzelnen folgen.



A. Einige Versuche über die Verunreinigung von Gegenständen und Oberflächen, die einer inficirten Atmosphäre ausgesetzt sind.

1. Infection von Blättern eines offenen Buches.

Ein gewöhnliches Buch (20 × 14 × 4 cm gross) wurde in Papier gewickelt und in heisser Luft sterilisirt. Kleine Rechtecke von 3 × 2 cm Grösse aus gewöhnlichem steifen, weissen Schreibpapier wurden ebenfalls sterilisirt. Das geschlossene Buch wurde flach auf einen Tisch gelegt. Zwischen den Blättern wurden an verschiedenen Stellen künstlich Oeffnungen hergestellt, indem ich sterilisirte Streichhölzer und, für grössere Oeffnungen, sterilisirte Reissnägel dazwischen steckte. Auf diese Weise wurden die natürlichen Oeffnungen zwischen den Blättern eines offenliegenden Buches nachgeahmt, mit dem Vortheil, dass man die Grösse dieser Oeffnungen genau reguliren konnte. Mit einer sterilisirten Pincette wurden 3 Papierrechtecke in jede der vorderen und hinteren Hälften jeder Oeffnung geschoben und 3 Stücke wurden gleichfalls auf die äussere freie Oberfläche des Buches zur Controle gelegt. Dann wurde Prodigiosus in einer Entfernung von 2 bis 3 m von dem Buche in die Atmosphäre verstäubt. Das benutzte Zimmer war ein gewöhnliches Arbeitslaboratorium (siehe *L* im Plan) mit geschlossen gehaltenen Fenstern und Thüren. Zwei Stunden nach der Aufstellung wurden die Papiere sorgfältig mittels einer sterilisirten Pincette entfernt, in sterilisirte Petri'sche Schälchen gelegt und mit einer Schicht verflüssigter Gelatine bedeckt. Natürlich verwandte ich jedmögliche Vorsicht, wie Sterilisation der Pincetten u. s. w. zwischen jeder Manipulation. Das Resultat des Versuches war wie folgt:

Aussen auf dem Deckel des Buches . .	3	Prodigiosuscolonieen
Vordere Hälfte einer 2 cm weiten Oeffnung .	8	„
Hintere Hälfte	1	„
In einer 5 mm-Oeffnung	3	„
In einer 2 mm- „	0	„

Der Versuch wurde mit einem ähnlichen Ergebnisse wiederholt. Bei der 5 mm-Oeffnung — der kleinsten, in welche Keime eindrangen — war möglicher Weise ein „Durchzug", d. h., wenn die Oeffnung sich über die ganze Oberfläche der Seiten erstreckt, anzunehmen, welcher in der 2 mm-Oeffnung, die wirklich eine Art „Sacköffnung" bildete, unmöglich schien. Das Resultat zeigt die Möglichkeit, dass Gegenstände, die in einer inficirten Atmosphäre liegen, selbst an so aussergewöhnlichen Stellen, wie sie eine 5 mm weite Oeffnung zwischen den Blättern eines Buches bietet, verunreinigt werden können.



2. Infection von Briefen während ihrer Beförderung durch die Post.

Zwei Bogen Schreibpapier wurden 1 Stunde lang in einer mit Bac. prodigiosus inficirten Atmosphäre liegen gelassen. Dann wurden sie in sterilisirte Couverts gesteckt und fortgeschickt; einer dieser Briefe durch die Stadtpost, was 20 Stunden in Anspruch nahm, der andere auf eine sechstägige Reise nach dem Norden Schottlands und zurück. Beide kamen in demselben unerbrochenen Zustande zurück, in welchem sie abgesandt waren. Bei ihrer Ankunft wurden die Couverts geöffnet und aus jedem Bogen 2 Stücke (25 ^{qcm}) mittels einer sterilisirten Scheere herausgeschnitten. Diese Stücke wurden nun mit gelöster Gelatine in sterilisirten Petri'schen Schälchen behandelt. Der 20 Stunden unterwegs gewesene Brief enthielt noch eine reiche Anzahl von lebenden Prodigiosuskeimen, der sechstägige jedoch keine mehr.

Dieser Versuch zeigt, dass eine Uebertragung von Infection durch Briefe möglich ist. Natürlich wird die Dauer der Infectionsfähigkeit von dem individuellen Widerstand der in Frage kommenden Organismen abhängig sein.

Ferner wurden 2 Bogen gewöhnlichen Schreibpapiers eincouvertirt, sterilisirt, auf ähnliche Reisen geschickt und uneröffnet zurückerhalten. Weder während der 17stündigen Stadtbeförderung noch während der sechstägigen Reise blieben dieselben in sterilem Zustande. (Um die Möglichkeit einer Verunreinigung während des Oeffnens der Briefe auf ein Minimum zu beschränken, wurden von vornherein Quadrate von 25 ^{qcm} aus jeder Hälfte des Bogens herausgeschnitten und nur durch einen schmalen Streifen mit dem Papier in Verbindung gelassen, bevor die Briefe fortgeschickt wurden. So war bei ihrer Ankunft nur erforderlich, das Couvert mittels eines sterilisirten Messers zu öffnen, jedes Quadrat mit einer sterilisirten Pincette abzulösen und in die Petri'schen Schälchen zu legen. Auf dem 25 ^{qcm}-Quadrat des 6tägigen Briefes entwickelten sich 4 Bakteriencolonieen und 3 Schimmelpilze, auf dem 17stündigen Briefe 2 Colonieen und 1 Schimmelpilz. Zwecks Vergleichung liess ich einen gewöhnlichen unsterilisirten Brief dieselbe Reise machen. Derselbe zeigte 150 Bakteriencolonieen und 7 Schimmelpilze pro 25 ^{qcm}.

Ich komme daher zu dem Schlusse, dass die Infection der Innenseite eines verschlossenen Briefes während seiner Beförderung durch die Post, wenngleich möglich, so doch höchst unwahrscheinlich ist.



3. Nachweis versprühter Keime nach dem Absitzen.

Schon Koeniger[1] hat gefunden, dass in frischer Tröpfchenform abgesetzte Keime sehr bald zu Grunde gehen, ich habe Aehnliches gefunden, wie die nachfolgenden Versuche zeigen werden.

a) Zu verschiedenen Zeiten nach der Versprühung von Prodigiosusaufschwemmung im Zimmer L des Planes wurden mehrere Stellen auf dem Fussboden des Zimmers sorgfältig mit erbsengrossen sterilisirten Schwämmen abgerieben, die dann in gelöste Gelatine gethan und in Petri'sche Schälchen abgegossen wurden. Die betreffenden Stellen auf dem Fussboden wurden durch einen Rahmen aus Pappe, dessen Ausschnitt 40 ^{qcm} gross war, immer mittels 2 Schwämmchen hinter einander abgewischt. Der Rahmen wurde dann nach jedem Wischen in der Flamme sterilisirt. Drei derartige Versuche wurden angestellt, in welchen das Wischen in jedem derselben zu folgenden Zeiten ausgeführt wurde: 2, 5, 8, 24, 2 × 24, 3 × 24, 4 × 24, 5 × 24 Stunden nach der Versprühung. Drei verschiedene Stellen auf dem Fussboden wurden in jedem der Versuche gewischt, wovon eine im Schatten lag, während eine andere gut durch diffuses Tageslicht belichtet war. Es wurde Sorge getragen, dass dieselbe Stelle nicht zwei Mal gewischt und nicht durch darauf Gehen oder Fegen verunreinigt wurde. Das Ergebniss zeigte, dass bereits zwischen 2 und 5 Stunden nach der Versprühung eine grosse Abnahme der Keime stattgefunden hatte. Nach 8 Stunden waren sie in allen Versuchen nur vereinzelt nachzuweisen, während von 24 Stunden ab aufwärts sie noch spärlicher wurden. In einem Versuche wurden schon nach 8 Stunden keine mehr vorgefunden, in einem anderen fand sich am 2. und 3. Tage noch ein isolirter Keim, während ich sie im letzten Versuche am 3. und 4. Tage in der schlecht beleuchteten Region noch festzustellen vermochte. Jedoch waren kein einziges Mal am 5. Tage nach der Versprühung Keime auf diesem Wege nachweisbar.

b) Ein ähnliches Resultat lieferte eine Modification des eben angeführten Versuches. Wurde der Fussboden nach Versprühen und Absitzenlassen der Keime in geeigneten Zwischenräumen mit einem Besen kräftig gekehrt, so fanden sich 24 Stunden nach dem Absitzen auf in der Nähe der Kehrstelle exponirten Gelatineschälchen wohl vereinzelte Prodigiosuskeime wieder, nach 3tägigem Absitzen dagegen in keinem einzigen Falle mehr.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIV. S. 127. Die Arbeit von Kirstein in *dieser Zeitschrift.* Bd. XXXV, konnte äusserer Umstände halber leider nicht mehr berücksichtigt werden.



c) Um aufzuklären, ob dieses schnelle Verschwinden der Einwirkung des Lichtes zuzuschreiben sei, wurde eine weitere Modification der Versuche vorgenommen. Kleine Rechtecke (5×4^{cm}) wurden aus gewöhnlichem weissen Filtrirpapier geschnitten und leicht an dünne Bretter genagelt, wobei die Nägel möglichst klein gewählt und einer in jeder Ecke des Papiers befestigt wurde, so dass man sie nachher leicht mit einer Zange entfernen konnte, ohne das Papier zu schädigen. 5 bis 6 Rechtecke wurden dann an jedem Brett befestigt und mehrere solcher Bretter in Papier gewickelt und sterilisirt. Dann wurden die Bretter frei auf den Fussboden eines Zimmers mit den Papieren nach oben gelegt und daneben eine grossse Anzahl offener sterilisirter Petri'scher Schälchen gestellt. Diese Platten enthielten nichts, sie waren nur sterilisirt. Nun wurde Prodigiosus in der Luft verstäubt und den Keimen oder einem Theil derselben zu ihrer Niedersenkung eine Frist von 10 Minuten gewährt. Darauf schützte ich eine Hälfte der Schälchen und Bretter vor dem Licht, indem ich grosse flache Holzkästen umgekehrt darüber deckte. Es wurde sodann an jedem folgenden Tage bis zu 8 Tagen nach der Versprühung je eine Petriplatte und ein Papier sowohl von den vor Licht geschützten wie ungeschützten Serien mit verflüssigter Gelatine behandelt. Auf den vor Licht geschützten Platten liess sich Prodigiosus bis zum 7. Tage nach der Versprühung feststellen, dahingegen waren die Keime auf den frei aufgestellten Platten zwischen dem 1. und 2. Tage abgestorben. Auf den vor Licht geschützten Papieren zeigte sich Prodigiosus noch 19 Stunden nachher, aber nicht mehr später, während die frei dem Lichte ausgesetzten Papiere 19 Stunden nach der Versprühung keine lebenden Prodigiosuskeime mehr aufwiesen.

In Anbetracht dieser Resultate muss man zu dem Schlusse kommen, dass für Bac. prodigiosus die Hauptursache seines Verschwindens thattächlich die Einwirkung des Lichtes bildet.

Natürlich lassen diese Versuche nicht ohne Weiteres den Rückschluss zu, dass andere Bakterien und namentlich Krankheitserreger nun sich ebenso wie Prodigiosus verhalten und wären weitere diesbezügliche Versuche zweifellos sehr erwünscht.

Ich schliesse eine Reihe von Experimenten an, die ermitteln sollten, wie schnell eine Wand (Tapete oder andere Bekleidung) durch keimhaltige Zimmerluft inficirt wird. Diese Frage hat gewiss auch praktisches Interesse, man wird vielleicht aus den Versuchen schliessen können, ob bei gewissen Infectionskrankheiten die Wände überhaupt und eventuell in welchem Maasse sie inficirt werden und wird daraus einen Anhaltspunkt über die Ausdehnung etwaiger Desinfectionsmaassregeln gewinnen können. Die Versuche wurden sowohl in stark bewegter keimreicher Luft (Thierstall) wie in ruhiger Luft (Arbeitsraum für nur eine Person) angestellt.

Zu letzterem Zwecke wurde wieder das gewöhnliche Laboratorium L im Plane genommen, das nur von einer Person während der Arbeitszeit des Tages benutzt war, und in welchem die Fenster von Zeit zu Zeit offen standen, wie dies ja auch in einem gewöhnlichen Wohnzimmer vorkommt. Wandflächen von 10×4 cm wurden täglich in der oben beschriebenen Weise mittels kleiner Schwämme behandelt und diese Schwämmchen dann in Gelatine gethan. Es wurden drei Stellen gewählt und zwar eine auf dem Fussboden, eine an der Wand, etwas über demselben, und eine andere an einem anderen Theile der Wand. Die ersteren beiden waren gut beschattet, die letztere dahingegen hellem, diffusem Tageslicht ausgesetzt. Das Abwischen mittels der Schwämmchen erfolgte regelmässig alle 24 Stunden Vormittags an sieben auf einander folgenden Tagen. Die Resultate wiesen beträchtliche Veränderungen von Tag zu Tag auf jeder der drei Flächen auf, jedoch nicht mit Regelmässigkeit eine Zunahme der Keime. Die Flächen auf dem Fussboden ergaben ausnahmslos eine weit grössere Anzahl von Keimen als die Wände. Das Durchschnittsverhältniss zwischen den beiden stellt etwa 20:1 dar.

Für den zweiten Theil des Versuches waren die Versuchsräume das Laboratorium des vorigen Experimentes und ein grosser Thierstall. Im letzteren war eine Hälfte des Fussbodens mittels Drahtzäunung abgesperrt, und eine grosse Anzahl Meerschweinchen und Kaninchen waren beständig darauf in Bewegung. Um Tapete darzustellen, wurden zwei Sorten Papier verwandt, nämlich gewöhnliches glattes, weisses Schreibpapier und rauhes, weisses Filtrirpapier. Das Filtrirpapier war eine neue starke Form, bei dessen Herstellung dünne Fäden in das Papiergewebe eingefügt sind, wodurch die Oberfläche in kleine quadratrische Vertiefungen von etwa 2 bis 3 mm Seitenlänge eingetheilt ist. Dieses Papier bot im Verhältniss zu dem Schreibpapier eine sehr rauhe Oberfläche. Auf beiden Papiersorten wurden nun Rechtecke (5×4 cm) mit Bleistift markirt. Diese wurden dann mit einem Rande von ungefähr 1 mm ausserhalb der Bleistiftlinie ausgeschnitten, leicht auf Brettern mit einem Nagel in jeder Ecke befestigt, in Papier gewickelt und sterilisirt. Dann wurden sie gleichzeitig an den Wänden des Laboratoriums und des Stalles aufgehängt, und zwar alle in einer Höhe von 1·5 m vom Boden und ziemlich gleichmässig von diffusem Tageslicht beleuchtet. An jedem der darauf folgenden Tage wurde je ein rauhes und ein glattes Papierrechteck aus jedem Raume vorsichtig entnommen und mit verflüssigter Gelatine übergossen. Um sich zu vergewissern, dass der Process des Entfernens und Beschneidens der Papiere nicht die etwa auf denselben befindlichen Keime abfallen liesse, wurde eine Controle derart ausgeführt, dass starke Rechtecke aus Pappe (5×4 cm) ohne Rand verwendet wurden, welche vertical auf zwei kleinen Nägeln ruhten. Diese

Rechtecke aus Pappe konnten später entfernt und direct in die Petri'schen Schälchen gelegt werden, ohne dass ein Beschneiden derselben nöthig war. Jedoch erhellte aus den Resultaten, dass das letztere Verfahren nicht zuverlässiger war als das erstere, während dieses (das erstere) mir das für den Zweck geeignetere erschien. 24 Stunden nach dem Befestigen der Papiere anfangend und täglich wiederholend bis zum 16. Tage darnach, wurden nun frische Papiere, sowohl rauhe wie glatte, mit Gelatine behandelt. Wie in der vorigen Versuchsreihe, schwankten auch hier die Mengen von Keimen von Tag zu Tag beträchtlich, ohne dass ein constantes tägliches Zunehmen zu beobachten war. Am constantesten erwiesen sich die Stallpapiere. Auch waren sie immer ergiebiger an Keimen als die Laboratoriumspapiere. Auf den rauhen Papieren der beiden Räume liessen sich mehr Keime nachweisen als auf den glatten, aber nicht in dem Maasse, wie man erwartet haben möchte. Der Maximalgehalt an Keimen wurde vom 2. zum 3. Tage gefunden. Die Durchschnittwerthe für die aus den 5 × 4 cm grossen Rechtecken in jeder der verschiedenen Stellungen gewonnenen Keime waren:

Stall (rauh)	Stall (glatt)	Lab. (rauh)	Lab. (glatt)
1265	695	28	19

d. h. im Grossen und Ganzen hatten die rauhen und glatten Papiere in dem Stalle 40 Mal so viel Keime wie jene im Laboratorium, während die rauhen Papiere im Durchschnitt nur anderthalb Mal so viel Keime wie die glatten in jedem Raume zeigten.

Eine der Wände des Stalles maass 6 × 3 m (d. h. 180 000 qcm). Man setze den Fall, dass diese Wand kürzlich mit einer glatten Tapete bekleidet worden sei. Dann müsste man nach 3 Tagen erwarten, dass die Tapete an dieser Wand allein etwa 6 Millionen Keime halten würde — eine immerhin recht beträchtliche Zahl. Allerdings war auch die Stallluft sehr reich an Bakterien. Auf Agarplatten, die eine Stunde lang in dem Stalle in einer Höhe von 1 m von dem Boden aufgestellt waren, fanden sich 1600 Colonieen auf 20 qcm. Der Versuch beweist, dass Tapeten, besonders solche mit einer rauhen Oberfläche, Keime aus der Atmosphäre in grossen Mengen aufnehmen können, und zwar in ziemlich kurzer Zeit. Daher wäre es wohl wünschenswerth, dass Räume, in denen ansteckende Kranke sich aufhalten, mit einer möglichst glatten und einfachen Wandoberfläche versehen werden. Allerdings scheinen die Keime auch bald wieder nach dem Absetzen auf der Wand zu Grunde zu gehen; denn sonst wären mit der Länge der Versuchsdauer auch constant höhere



Keimzahlen wohl gefunden worden. Dieses schnelle Zugrundegehen hat nach den früheren Erfahrungen mit den Keimen des Fussbodens nichts Ungewöhnliches mehr.

B. Infection der Atmosphäre.

I. Innerhalb des Hauses.

1. Ueber die Dauer des Schwebens von Keimen in der Luft.

Dies ist naturgemäss ein Gegenstand von beträchtlicher Bedeutung. denn durch die Feststellung dieses Punktes erfahren wir, wie lange eine Atmosphäre, die durch Tröpfchen- oder Staubinfection inficirt worden ist, für uns gefährlich bleibt. Einige Versuche nach dieser Richtung liegen schon vor. Flügge[1] nimmt als Dauer des Schwebens der feinsten künstlich versprühten Keimtröpfchen und Keimstäubchen in der Luft 4 bis 6 Stunden in einem gewöhnlichen geschlossenen Raume an. Unter denen, deren Resultate hiervon abweichen, sei Weismayr[2] erwähnt, welcher ermittelte, dass die grosse Mehrzahl von „natürlich versprühten" Keimen nach der ersten halben Stunde zu Boden sinkt, während ganz kürzlich Koeniger[3] die Dauer des Schwebens auf höchstens zwei Stunden ermittelte. Dem letztgenannten Verfasser gelang es in einer grossen Reihe von Versuchen[3] nicht ein einziges Mal, in der ruhigen Atmosphäre eines Zimmers nach Verlauf einer Stunde „natürlich versprühte" Keime noch nachzuweisen. Dahingegen bemerkte er eine bedeutende Abnahme von Keimen schon nach Verlauf von 10 Minuten, und konnte nur hier und da nach $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde noch einen vereinzelten Keim finden.

In den folgenden Versuchen wurden die Keime in die Mitte eines geschlossenen Raumes in einer Höhe von etwa 1·5 ^{m} vom Boden versprayt. Nach erfolgter Versprühung wurde für das Niedersinken der gröberen Theilchen eine gewisse Zeit verstreichen lassen, dann wurden Gelatine- oder Agarplatten im Zimmer in verschiedenen Höhen horizontal angebracht, nämlich auf dem Fussboden, sowie 1·0 ^{m} und 2·0 ^{m} darüber. Frische Platten wurden in allmählich grösser werdenden Zwischenräumen nach Beendigung der Versprühung in ähnlichen Stellungen aufgestellt. Die Zimmerluft war inzwischen frei von jeglicher Störung, da alle Fenster und Thüren geschlossen waren und eine besondere Ventilation nicht existirte. Die Expositionsdauer der Platten betrug 1 bis 2 Stunden. Es ist wohl

---

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV. S. 250.

[2] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 46.

[3] A. a. O. S. 149.



unnöthig, einen eingehenden Bericht über die Anzahl von Colonieeen zu geben, die sich auf jeder Platte entwickelten. Sämmtliche Resultate liessen erkennen, dass die in einer Höhe von 1·5 m in die Zimmerluft versprühten Keime während der ersten 15 Minuten in jener Höhe in weit grösserer Menge vorhanden sind als am Boden. Nach 15 Minuten ist die Anzahl von Keimen, die sich aus der Atmosphäre in den drei Höhen von 2 m, 1 m und am Boden gewinnen lässt, durchweg schon sehr vermindert, nämlich 30 bis 40 Mal, doch sind Keime noch ebenso reichlich in einer Höhe von 1 m wie dicht über dem Boden vorhanden. Nach einer halben Stunde hatte die Anzahl weiter bedeutend abgenommen, doch waren selbst in 2 m Höhe noch Keime nachzuweisen. Nach einer einstündigen Frist wurden weder in 1 m Höhe noch darüber Keime gefunden und nur ein vereinzelter Keim dicht über dem Boden. Ebenso nach $3^1/_2$ Stunden. Ein ähnlicher Versuch wurde in einem ganz kleinen geschlossenen Zimmer von ungefähr $3 \times 3 \times 4{\cdot}5$ m Grösse angestellt. Hier wurden ebenfalls eine halbe Stunde nachher sowohl über dem Boden wie bei 1·0 m Höhe, aber nicht bei 2·0 m Höhe Keime angetroffen. Nach einer Stunde konnten sie noch am Fussboden festgestellt werden, aber weder in 1 m noch 2 m Höhe. Ein vereinzelter Keim wurde noch nach 2 Stunden über dem Boden entdeckt, aber keiner darüber. Aufwärts von 4 Stunden an liess sich kein Keim mehr nachweisen.

Bei einem dritten, in einem grösseren Raume ausgeführten Versuche fanden sich 2 Stunden nach der Versprühung keine Keime mehr in der Luft vor.

Es scheint also nach diesen Versuchen, dass die Hauptverminderung der Luftkeime während der ersten halben Stunde erfolgt. Die inficirte Atmosphäre eines Zimmers ist daher aller Wahrscheinlichkeit nach verhältnissmässig rein ungefähr 1 Stunde nach Entfernung der Infectionsquelle, vorausgesetzt, dass die Luft ungestört durch Zug, Bewegung von Personen u. s. w. bleibt. Es lässt sich jedoch annehmen, dass Keime dicht am Boden für beträchtlich längere Zeit als die oben erwähnte durch Zug in den unteren Luftschichten umhergetrieben werden können, bevor sie endlich am Boden haften bleiben.

Andere Factoren, welche die Dauer des Schwebens in gewissem Grade beeinflussen könnten, sind der jeweilige Feuchtigkeitsgehalt der Luft, sowie die Grösse und das specifische Gewicht der betreffenden Mikroorganismen. In dieser Richtung hat Koeniger[1] schon dargethan, dass die künstliche Erhöhung der Feuchtigkeit der Luft nur wenig Einfluss auf die Dauer des Schwebens hat, dass aber der letztere Factor eine

[1] A. a. O.



mehr oder weniger wichtige Rolle spielt, und so werden meine Versuche vielleicht auch nur Gültigkeit haben, wenn es sich um Keime handelt, die dasselbe specifische Gewicht und die Grösse des Prodigiosus haben.

2. Ueber die Verschleppung von versprühten Keimen an wenig zugängliche Stellen in dem betreffenden Raume.

Flügge und Koeniger haben bereits gezeigt, der erstere durch künstliches, der letztere durch natürliches Versprühen, dass die in der Atmosphäre schwebenden Keime im Stande sind, einen Raum bis zu seinen äussersten Grenzen hin in allen Richtungen sowohl horizontal, wie auch vertical zu inficiren. Flügge hat auch die Leichtigkeit besonders hervorgehoben, mit welcher solche Stellen, wie z. B. Schränke inficirt werden können. Er hat andererseits festgestellt, dass, wenn umgekehrt oder vertical aufgestellte Agarplatten einer solchen Luft ausgesetzt sind, Keime keine Neigung zeigen, sich darauf abzusetzen.

Die folgenden Versuche beschäftigen sich eingehender mit dem gleichen Thema.

a) Petri'sche Schälchen wurden in verschiedenen Höhen im Zimmer L des Planes aufgestellt. An jedem Ort waren zwei solcher Platten angebracht, eine mit der Gelatineschicht nach oben, die andere mit der Gelatineschicht nach unten gerichtet. Die letzteren blieben stets frei von Colonieen nach vorhergegangener Luftinfection. Da man annehmen konnte, dass vielleicht der vorstehende Rand der Petri-Schalen die Luftkeime bei ihrem langsamen Aufsteigen hindern könnten, an die Gelatine der umgekehrten Schälchen heranzukommen, wurde ein anderer Versuch mit einfachen Glasplatten gemacht, die, mit Gelatine beschickt, ebenfalls umgekehrt aufgehängt wurden. Das Resultat war das gleiche, die Platten blieben wieder steril, während die Controlplatten mit der Gelatineschicht nach oben dicht mit Prodigiosus bedeckt wurden. Nun wurde der Versuch in folgender Weise modificirt. Steife horizontale Drähte, die an den Enden zu Haken gebogen waren, wurden an der Gasleitung befestigt, die von der Mitte der Decke herabhing. An den freien Enden der Drähte konnten Koch'sche Gelatineplatten in jeder beliebigen Stellung mittels Draht- und Seidenfadenvorrichtungen angebracht werden. Sechs Platten wurden in folgender Weise aufgehängt: zwei horizontal, wovon immer eine die Gelatineschicht nach oben, die andere sie nach unten hatte; eine im Winkel von 45° geneigt mit der Gelatine oben. Zwei weitere Platten, die die Gelatine auf der unteren Fläche hatten, waren im Winkel von 60° bezw. 30° befestigt. Die sechste Platte endlich war vertical aufge-

hängt. Gleichzeitig wurden vier umgekehrte Koch'sche Platten in vier verschiedenen Stellungen mittels Reissnägel, welche die Ränder stützten, an der Decke (4·5 ^{m} hoch über dem Fussboden) angebracht. Neben jeder Platte hing ein gewöhnliches Petri'sches Schälchen mit der Gelatineschicht nach oben in einer Fadenvorrichtung von der Decke herab. Ein Zwischenraum von 1 bis 2 ^{cm} trennte die Ränder der Petri'schen Schälchen von der Decke. Die gewählten vier verschiedenen Stellungen an der Decke waren: 1. nach dem Mittelpunkt der Decke zu gelegen und zwar zwischen zwei Balken derselben, 2. in einer ähnlichen Stellung, aber auf der hervorspringenden Fläche eines Balkens, 3. an der Decke nahe bei ihrer Vereinigungsstelle mit einer Wand, 4. an der oberen Fläche einer quadratförmigen Oeffnung in der Wand nahe der Decke, welche das Zimmer mit einem anstossenden verbindet. Im Folgenden sind die Ergebnisse an Prodigiosus-Colonieen pro Quadratcentimeter der Gelatinefläche auf den Koch'schen Platten wie auch Petri'schen Schälchen angegeben; nur bei der vertical befestigten Koch'schen Platte bedeutet die Zahl 14 die Gesammtanzahl von Colonieen, die sich auf der Platte entwickelt hatten. (Siehe nachstehende Tabelle.)

Lage der Platte	Gelatine oben horizontal	Gelatine unten im Winkel v. 45°	Gelatine vertikal	Gelatine unten im Winkel v. 60°	Gelatine unten im Winkel v. 30°	Gelatine unten horizontal
Um das Gasrohr herum in einer Höhe von 3 ^{m}	6 pro qcm	4 pro qcm	14 i. Ganzen alle am ober. Rande	0	0	0
An der Decke zwischen Balken	14 „	—	—	0	0	0
An der Decke auf der Balkenfläche	14·5 „	—	—	0	0	0
An der Decke, nahe ihrer Berührungsstelle mit der Wand	14 „	—	—	0	0	0
In einer Oeffnung nahe des Decke (s. oben)	11 „	—	—	0	0	0

Der Versuch wurde zwei Mal mit nahezu gleichem Resultat wiederholt. Nur ein einziges Mal gelang es, eine Prodigiosuscolonie auf einer umgekehrten Koch'schen Platte zu erhalten. Die Platte befand sich in einer Höhe von 2·25 ^{m} vom Fussboden. Die auf den vertical befestigten Koch'schen Platten vorgefundenen Keime waren immer sehr spärlich an Zahl und an dem oberen Rande der Gelatineschicht entlang gelagert.

Endlich wurde derselbe Versuch mit aus dem Zimmerstaub aufgewirbelten Keimen ausgeführt. Zu diesem Zwecke wurde Prodigiosus in

der Luft versprüht, und dann nach 2 Stunden eine Reihe gewöhnlicher Petri'scher Gelatineschälchen in verschiedenen Stellungen im Zimmer aufgestellt. Diese zeigten später, dass die Luft zu der Zeit, d. h. 2 Stunden nachher, frei von Prodigiosus war. 3 Stunden nach der Versprühung wurden sechs Koch'sche Platten wieder wie vorher in einer Höhe von 3 ^{m} um die Gasleitung herum angebracht. Nun wurde der Fussboden mittels Besen energisch gefegt, um so den Uebertritt des Prodigiosus in die Luft zu veranlassen. Das gewonnene Resultat war dem Vorhergehenden ganz ähnlich. Die einzige Platte, welche Keime entwickelte, war die horizontal, mit der Gelatineschicht nach oben, befestigte. Im Ganzen wies sie 30 Colonieen auf, alle anderen Platten blieben frei. Das Ergebniss dieser Versuchsserie ist also, dass versprühte und durch Besen vom Fussboden aufgewirbelte Keime wohl bis zur Decke des Raumes in grösserer Anzahl gelangen, doch ist ihre Aufwärtsbewegung anscheinend so langsam, dass sie entweder gar nicht mit ihnen entgegenstehenden Flächen in Berührung kommen und dann vielleicht an denselben vorbeigeführt werden, oder dass sie die Flächen möglicher Weise berühren, aber so zart, dass ein Anhaften selbst an klebrigen Flächen, wie Gelatine, nicht zu Stande kommt. Man wird daraus den praktischen Schluss ziehen können, dass die Zimmerdecke und untere Flächen von Möbeln in der Regel bei Luftinfection nicht desinficirt zu werden brauchen.

Das Hingelangen von Keimen durch die Luft nach schwer zugänglichen Stellen eines Zimmers wird durch die folgenden Versuche veranschaulicht.

Im Innern einer Schublade eines gewöhnlichen Arbeitstisches wurden drei offene Petri'sche Gelatineschälchen untergebracht. Nachdem erstere geschlossen war, wurde die Versprühung im Zimmer vorgenommen. 2 Stunden darauf wurde die Schublade vorsichtig geöffnet und die Schälchen schnell bedeckt in den Brutofen gebracht. Zahlreiche Prodigiosuscolonieen entwickelten sich auf jeder Platte. Nun wurde der Versuch mit folgender Modification wiederholt. Um eine Infection der Schälchen beim Herausnehmen derselben aus der Schublade auszuschliessen, wurde an den Schälchendeckel mittels Draht eine Vorrichtung angebracht, die gestattete, den Deckel ohne Oeffnen der Schublade mit einem Bindfaden über die Schale zu ziehen. Die Schublade wurde alsdann vorsichtig zugemacht, verschlossen und das Schlüsselloch mit Watte verstopft. Die Ritze über der Schublade wurde so klein wie möglich (ungefähr 1 bis 2 ^{mm}) gemacht, dadurch, dass kleine Holzkeile unter die Schublade geschoben wurden, welche dieselbe nach oben drückten. Sodann erfolgte die Versprühung im Zimmer und nach 1 bis 2 Stunden wurde leise an den Fäden gezogen, wodurch dann die Deckel über ihre betreffenden Platten glitten. Der



Versuch wurde mehrmals mit dem unveränderlichen Ergebniss wiederholt, dass grosse Mengen von Keimen ihren Weg in die Schublade gefunden hatten. Die auf den Petri'schen Schälchen für Prodigiosuscolonieen ermittelten Werthe waren in verschiedenen Versuchen:

im hinteren Theil der Schublade . . .	83	230	480	30	10	840
im vorderen Theil der Schublade . . .	60	150	—	—	—	—

In keinem Falle war das Resultat bei dieser Schublade ein gänzlich negatives. Die freien Plätze in obiger Tabelle bezeichnen, dass Petri'sche Schälchen nur im hinteren Theil der Schublade aufgestellt worden waren. Die Zahlen wechseln beträchtlich, was darin seine Erklärung finden mag, dass Unterschiede in der Richtung und Stärke der Luftströmungen, Unterschiede in der Stärke der Prodigiosusaufschwemmung u. s. w. bestanden haben müssen. Es sei noch besonders bemerkt, dass auch an den Seiten und hinten der Rand der Schublade ziemlich gut nach aussen hin abschloss.

Das Eindringen von Keimen aus der Atmosphäre in dieser Weise scheint in hohem Grade von der Möglichkeit eines gewissen „Durchzugs“ abzuhängen. In der erwähnten Schublade waren die Bedingungen dafür durch die Ritzen vorne und hinten vorhanden. Dass dieses von Einfluss sein kann, wird bewiesen durch die folgenden Versuche, die erkennen lassen, dass an Stellen, wo solche Bedingungen nicht existiren, die Keime auch keine Neigung zeigen, einzudringen. Als Versuchsobject dienten ein Mikroskopkasten und ein in der Wand eingelassener Schrank. In beiden, die nach hinten vollkommen dicht abgeschlossen, wurde eine Gelatineplatte hinter dem Schlüsselloch schräg aufgestellt. Die Thüren schlossen dicht, und es bestand also in der That keine Möglichkeit eines Durchzugs im Innern. In keinem dieser Plätze konnten Keime aus der inficirten Atmosphäre nachgewiesen werden.

Zwei weitere aussergewöhnliche Plätze, bis wohin Keime vordrangen, mögen noch Erwähnung finden, nämlich die Wand hinter einem grossen, dicht an dieser stehenden Schrank und der Fussboden unter demselben. Dieser Schrank maass $2 \times 1 \cdot 2 \times 0 \cdot 4^{m}$ und war so nahe an die Wand gestellt, dass der dazwischen liegende Raum nicht weiter als $1 \cdot 5$ bis 2^{cm} betrug. Vier Koch'sche Gelatineplatten wurden dann in verticaler Lage in den Zwischenraum heruntergelassen und zwar zwei mit der Gelatineseite nach der Wand und zwei nach dem Schranke zugekehrt. Die Versprühung im Zimmer wurde nun vorgenommen und alle Platten wurden inficirt, aber nur an dem oberen Rande der Gelatineschicht, wie nach den früheren Versuchen zu erwarten war. Direct unter diesen Schrank, dessen Boden etwa 5^{cm} vom Fussboden entfernt war, fanden ebenfalls zahlreiche Keime ihren Weg. Es ergiebt sich also das auch für die Praxis eventuell



wichtige Resultat, dass selbst durch ganz enge Spalten, wenn nur ein gewisser Luftwechsel möglich ist, auch Keime in der Regel passiren.

Eine weitere Serie von Versuchen beschäftigt sich mit der Frage, ob durch Begehen eines Fussbodens Keime, welche auf diesem oder in den Spalten desselben vorhanden sind, wieder in die Zimmerluft gelangen können. Der Laboratoriumsfussboden bot für diese Versuche ein günstiges Object. Die Dielung war nämlich alt und, wie es in solchem Fall gewöhnlich ist, hatten sich die Fugen erweitert und mit hartem, festgebacktem Staub angefüllt, der hier und da mehr oder weniger offene Verbindungswege mit dem Raum unter dem Boden aufwies. Die Fugen waren ungefähr 2 mm weit, und wie aus Obigem ersichtlich, waren die Bretter theilweise ganz aus Nuth und Feder gegangen. In diesem Versuch kam die Versprühung von Prodigiosus nicht in Anwendung. Umgekehrte Koch'sche Platten wurden direct über den Fugen für Zeiträume von $^1/_2$ bis 1 Stunde in verschiedenen Höhen aufgehängt. Während der Exposition wurde auf den Dielen des betreffenden Theiles von Zeit zu Zeit gegangen. Das Ergebniss war ein üppiges Wachsthum gewöhnlicher Keime in einer dichtbesäten Linie auf der Gelatine entlang, gerade der Linie der Fuge entsprechend. Je näher die Platte dem Fussboden gebracht wurde, desto mehr Colonieen entwickelten sich und zwar wurden in einer Höhe von 1 cm 609 Colonieen gezählt, alle auf einen nicht mehr als 2 cm breiten Streifen beschränkt, in dessen Mitte sie sehr eng lagen, während sie sich nach den Rändern zu verdünnten. Bei einem zweiten Versuch wurden auf einem ähnlichen Streifen 256 Colonieen festgestellt. Nach den früheren Resultaten mit umgekehrten Koch'schen Platten waren diese Ergebnisse kaum zu erwarten. Die Erklärung liegt vielleicht in der Thatsache, dass es sich in diesem Falle nicht um ein langsames Aufsteigen des keimhaltigen Luftstromes handelte, wie beim Versprühen, sondern um ein gewaltsames, stossweises Aufwirbeln gegen die überhängende Gelatinefläche durch die von dem Betreten der Dielen herrührende Erschütterung. Die Dielen besassen einen gewissen Grad von Elasticität, und man kann sich vorstellen, dass die Keime buchstäblich an die Gelatine geschleudert wurden. Diese Vermuthung wird noch durch die Thatsache bestätigt, dass auf den Platten bei einem vergrösserten Abstand, nämlich 5 cm von der Ritze, sich weit weniger Keime (47 bezw. 20) entwickelten, und dass diese, obgleich noch in der Linie der Fuge, nicht annähernd so eng darauf beschränkt waren. Ferner zeigten sich 10 cm von der Ritze entfernt auf den umgekehrten Koch'schen Platten keine Colonieen mehr. So können also zweifellos durch Begehen des Fussbodens Keime in die Zimmerluft gelangen, aber ihr Infectionsradius wird in der Regel nur ein sehr beschränkter sein.



Die nächsten Experimente behandeln die Frage: **In welchem Maasse ist der Uebertritt von Keimen aus einem Zimmer in ein anderes durch ein Schlüsselloch oder durch die Spalten geschlossener Thüren möglich?**

Zwei benachbarte Zimmer waren durch eine Thür getrennt, die geringe, aber immerhin deutlich erkennbare Ritzen beim Schliessen zeigte. In dem kleineren Raume wurde nach Schluss der Thür Prodigiosus versprüht. Es wurde nun wie folgt verfahren: In dem nicht inficirten Raume waren vorher Petri'sche Gelatineschälchen an verschiedenen Stellen ausgelegt. Auch gerade dem Schlüsselloch der Verbindungsthür gegenüber, und zwar mit schräggerichteter Schichtseite, wurde eine Koch'sche Gelatineplatte befestigt. Dieselbe war etwa 4 bis 5 cm davon entfernt, so dass durch das Schlüsselloch dringende Keime wohl am ehesten auf ihre Oberfläche fallen mussten. Nun wurde die Thür geschlossen und die Versprühung des Prodigiosus im kleineren Raume vorgenommen. Nach einer Expositionszeit von 2 Stunden wurde die Thür vorsichtig geöffnet und die Schälchen bedeckt. In einem anderen Versuch war das Schlüsselloch mit Watte verstopft, so dass der einzige Durchweg für Keime die Ritzen der geschlossenen Thür blieben. In beiden dieser Versuche gelangten Keime in den Raum jenseits der Thür. Auf der Koch'schen Platte hinter dem offenen Schlüsselloch entwickelte sich ein besonders ausgeprägter ovaler Fleck von Prodigiosuscolonieen, der gerade dem Schlüsselloch entsprach, wohingegen sich in den Versuchen bei verstopftem Schlüsselloch Prodigiosus nicht an einer Stelle, sondern mehr oder weniger über die ganzen Gelatineflächen der Koch'schen Platten verstreut entwickelte. Es konnten auf den meisten der Petri'schen Schälchen Prodigiosuscolonieen festgestellt werden, selbst auf einer, die sich am entlegensten von der Thür auf einer Fensterbank befand und zwar in einer Entfernung von 4.0 m von der Thür.

Wenn man aus diesem Versuche irgend welche praktische Folgerungen ziehen wollte, so darf man nicht vergessen, dass in meinen Versuchen die Infectionsgelegenheit eine überaus reichliche war, verglichen mit derjenigen, welche unter natürlichen Bedingungen vorhanden ist. Doch ist nachgewiesen worden, dass der Durchgang von Keimen aus einem Zimmer in ein anderes in einer gewöhnlichen, geschlossenen Thür kein Hinderniss zu finden braucht.

3. Einige Experimente mit inficirten Kleidern.

Es sollte durch die Versuche nachgewiesen werden, ob irgend eine Gefahr besteht, dass durch inficirte Kleider Keime an die Luft nicht inficirter Räume abgegeben werden.



Zunächst wurde wieder Prodigiosus versprüht und ich verliess dann das Zimmer sehr langsam, etwa 10 Minuten nachher, und begab mich langsam zu einem weit entfernten Raume, in welchem offene Petri'sche Gelatineschälchen aufgestellt waren. Durch dieses langsame Verfahren war die Möglichkeit eines Mitziehens von Keimen durch die mich umgebende Luft wohl ausgeschlossen. Ueberdies befanden sich zwischen den beiden Zimmern zwei Treppenläufe und vier geschlossene Thüren, welche diese Möglichkeit noch unwahrscheinlicher machten. Beim Betreten des 2. Zimmers wurde einfach in demselben 2 oder 3 Mal hin- und hergegangen und Bewegungen nachgeahmt, wie z. B. das Herunterschütteln des Quecksilbers eines klinischen Thermometers. Nichts, das einer heftigen Erschütterung gleich kam, und kein Reiben der Oberfläche der Kleider fand statt. Der Versuch wurde 3 Mal mit dem Ergebniss wiederholt, dass sich nur 1 Mal eine Prodigiosuscolonie auf dem Petri'schen Schälchen im zweiten Zimmer entwickelte. Dieses Zimmer war überdies sehr klein (ungefähr $2 \cdot 5^{qm}$), so dass zur Wiederauffindung von Keimen besonders gute Gelegenheit vorhanden war.

Der Versuch wurde nun derartig modificirt, dass inficirte Kleider für verschiedene Zeitlängen getrocknet und dann mit einer gewöhnlichen Kleiderbürste in einem nichtinficirten Raume gebürstet wurden. Es wurde ein gewöhnlicher Rock mit verhältnissmässig glatter, nicht haariger Oberfläche gewählt und zuerst der Prodigiosusversprühung unterworfen, indem derselbe über die Lehne eines Stuhles gespannt und dann die Verstäubung rings herum in einer Entfernung von etwa 1^{m} ausgeführt wurde. Dann wurde er am offenen Fenster 2 Stunden lang getrocknet, wobei er hellem Tageslicht, aber nicht Sonnenschein ausgesetzt war. Nun trug ich den Rock zu einem entfernten Zimmer, und dort bürstete ich leicht die ganze Oberfläche des Rockes mit einer sterilisirten Kleiderbürste. Der Raum, in welchem das Bürsten stattfand, bestand aus einer Reihe von 3 Zimmern, die miteinander durch offenstehende Thüren verbunden waren (siehe *F* im Plan). Im ersten Versuch wurde der Rock gebürstet, im zweiten mittels eines Stockes ausgeklopft, im dritten endlich wurde nichts dergleichen ausgeführt, sondern ich betrat einfach mit angezogenem Rock das Zimmer und ahmte das Schütteln eines klinischen Thermometers, wie oben beschrieben, nach. Petri'sche Schälchen waren schon vorher geöffnet in den Räumen aufgestellt worden. Der Platz, auf welchem ich stand, war in jedem Falle derselbe, nämlich gerade in der Eingangsthür. Die Infection der Atmosphäre war in dem Versuch, in welchem das Bürsten angewendet wurde, eine allgemeine und grosse bis zur weitesten Grenze (11^{m}) der Räume hin. Die Wirkung des Ausklopfens mittels eines Stockes war beträchtlich geringer, aber doch bemerkbar, und zwar ebenfalls bis

zur 11 m-Grenze. Im dritten Versuch war die Infection eine äusserst leichte, da nur eine Platte Keime enthielt, welche sich 4 m von der Infectionsquelle befand.

In drei anderen ähnlichen Versuchen gelang es, 20 Stunden nach der Infection des Rockes die Atmosphäre eines Zimmers noch durch Bürsten zu inficiren. Die anderen beiden Versuche, in welchen der Rock 24 bezw. 3×24 Stunden nach der Infection gebürstet wurde, wiesen dagegen negative Resultate auf. In den drei letzteren Experimenten wurde der Rock in der Zeit zwischen der Versprühung und dem Ausbürsten sowohl im Hause wie draussen im Sonnenschein getragen.

Es erhellt aus diesen Versuchen, dass in der That durch inficirte Kleider eine Infection in entfernte Räume verschleppt werden kann, selbst wenn diese Kleider viele Stunden im Freien getragen worden sind. Gross scheint allerdings die Gefahr nicht zu sein, falls die Kleider nicht geklopft oder sonstwie stark bewegt werden.

4. Ein Vergleich der Wirkungen des Fegens und Gehens über einen inficirten Fussboden.

Hierzu wurde ein kleiner, allseitig gut geschlossener Raum (2·5 qm) mit Steinfussboden benutzt. Die Atmosphäre wurde in der gewöhnlichen Weise mit Prodigiosus inficirt. Das Zimmer wurde sodann für 5 Stunden absolut ungestört gelassen, und darauf auf dem Fussboden und in verschiedenen Höhen Petri'sche Gelatineschälchen aufgestellt. In einem Versuch wurde nun 3 oder 4 Mal über den Fussboden gegangen, während er in einem anderen Experiment energisch mittels eines Besens gefegt wurde. Im letzteren Falle wurden die Petri'schen Schälchen etwa 1 Minute nach Beendigung des Fegens bedeckt.

Das Resultat war, dass in beiden Versuchen Keime auf den Platten sich entwickelten, aber nur in einem sehr geringen Maasse nach Betreten des Fussbodens, und zwar dann nicht höher als 1 m von demselben, während sich durch das Fegen grosse Mengen von Bakterien loslösten und sich auch in grosser Anzahl bis nahe der Decke feststellen liessen. So sehen wir, dass, sollte der Fussboden eines Zimmers inficirt sein, die Gefahr einer Verunreinigung der Atmosphäre durch einfaches Gehen auf demselben nicht bedeutend ist (vergleiche auch den Versuch früher), besonders nicht bis in Kopfhöhe, wohingegen das Fegen mittels eines gewöhnlichen Besens wohl die Zimmerluft in ihrer ganzen Ausdehnung zu inficiren pflegt. Man wird also in Räumen, in denen man Infectionskeime auf dem Boden vermuthet, beim Reinigen und Desinficiren besondere Vorsicht anwenden und ein trockenes Ausfegen jedenfalls vermeiden müssen.



5. Versuch über die Verbreitung von Luftkeimen auf weite Strecken hin in Wohnungen.

Benutzt wurden zu diesen Versuchen der Corridor des Instituts, sowie einige anstossende Zimmer.

Zunächst wurden Petri'sche Schälchen an verschiedenen Stellen des Corridors bis zu seinem äussersten Ende exponirt. Dann erfolgte die Prodigiosusversprühung am Nordende und der Corridor verblieb ungestört während der ganzen Expositionszeit. Ein schwacher Luftzug in der Richtung der Schälchen konnte mittels Cigarettenrauches festgestellt werden. Die beiden Thüren im Corridor (*d'*, *d'* im Plan) waren weit offen gelassen. Das Ergebniss dieses Versuches zeigte, dass Keime bis zur äussersten Grenze des Corridors, einer Entfernung von etwa 53 m, gelangt waren.

In einem zweiten Versuch wurden wiederum offene Petri'sche Gelatineschälchen an den verschiedensten Punkten exponirt. Alle Thüren, mit Ausnahme der des Corridors *d'*, *d'*, waren offen gelassen. Bevor die Versprühung ausgeführt wurde, zog ich einen langen, weissen Laboratoriumskittel mit aufgeschlagenem Kragen an. Ebenfalls wurde ein grosser Hut über den Kopf gezogen. In diesem Costüm wurde die Versprühung am äussersten Nordende des Corridors vorgenommen, dann 2 Minuten gewartet, um den gröberen Theilchen eine Frist zum Niedersinken zu gewähren, schnell der Kittel und Hut entfernt und dann vom Nordende des Corridors rasch der folgende Weg verfolgt: Von Corridor *A* nach *B* durch offene Thür, dann durch *C*, *D* und *E*. Dann über den Corridor nach *F*, wieder hinaus aus *F* durch offene Thür und den Corridor entlang nach *G*. Von *G* nach *H*. Von *H* über den Corridor nach *I*, von dort den Corridor entlang nach dem Endziel *I*, einer kleinen Werkstatt am Südende des Corridors. In *I* ein kleiner Aufenthalt, dann ging ich etwas langsamer zurück, auf dem Wege zugleich die Thüren jedes oben erwähnten Zimmers schliessend. Die Schälchen waren auf dem ganzen Wege vertheilt und sind auf dem Plan mittels kleiner Zahlen 1, 2, 3 u. s. w. markirt. Auf der Wanderung wurden einfach die verschiedenen Räume betreten, einmal um jede Platte in einer Entfernung von etwa 50 cm herumgegangen, dann das Zimmer durch die Thür verlassen, ohne irgend welchen weiteren Aufenthalt. Die Exposition der Platten dauerte 2 Stunden. Während dieses Versuches und ebenfalls der nachfolgenden blieben die Corridorthüren *d'*, *d'* geschlossen. Es stellte sich heraus, dass Keime thatsächlich in mehrere der besuchten Zimmer verschleppt worden waren, und zwar fanden sich Prodigiosuscolonieen auf Platte

$$1 = 240 : 2 = 5 : 3 = 2 : 4 = 0 : 5 = 2 : 6 = 0 : 7 = 0$$
$$8 = 1 : 9 = 0 : 10 = 0 : 11 = 1 : 12 = 0 \text{ (siehe Plan).}$$



Aus der grossen Abnahme an Colonieen zwischen Platte Nr. 1 und 2 ist anzunehmen, dass eine beträchtliche Menge von Keimen hinter der gehenden Person her mitgewandert ist, dass die überwiegende Mehrzahl derselben aber fast unmittelbar darauf niedergesunken ist, während nur einige wenige ihren Weg durch die Luft fortsetzten. Der entfernteste Raum, in welchem sie wiedergefunden werden konnten, war der Hörsaal (*H*), und zwar auf einer von drei dort aufgestellten Platten.

In einem anderen Versuche wurden nur die Thüren auf dem Rückwege geschlossen, welche die Zimmer *I*, *J*, *H* und *G* mit dem Corridor verbinden. Die sich aus diesem Versuch ergebenden Resultate waren:

1 = 600 : **2** = 32 : **3** = 2 : **4** = 2 : **5** = 2 : **6** = 1 : **7** = 0:
8 = 0 : **9** = 0 : **10** = 0 : **11** = 2 : **12** = 1.

Hier bemerken wir wieder eine auffallende Abnahme zwischen 1 und 2 und weiter zwischen 2 und 3. In Anbetracht des verwickelten Weges, den die Keime zurücklegen mussten, ist es sehr wahrscheinlich, dass über Nr. 3 hinaus in *F* gefundene Colonieen hinter der gehenden Person ihren Bestimmungsort erreicht haben, indem sie durch die Person im Luftzug mitgerissen worden sind, wie wir Aehnliches bei einem schnellfahrenden Schiff in dem sogenannten „Sog“ beobachten können.

Die Ergebnisse lassen die Möglichkeit zu, dass eine Person Keime mit sich führen oder vielmehr hinter sich herziehen kann, wenn sie schnell und ohne Aufenthalt aus einer inficirten Atmosphäre aus einem Theil eines Gebäudes zu einem entfernten Theil desselben geht, und dass dies bis zu einer Entfernung von 53 m der Fall sein kann. Ueber diese Grenze hinaus noch Infection nachzuweisen war mir unmöglich; jedoch scheint kein Grund vorhanden, warum diese Entfernung nicht überschritten werden sollte, besonders in einem Falle, wo sich die Person direct zwischen den beiden betreffenden Plätzen bewegt, ohne von ihrem geraden Wege abzuschweifen, wie in den obigen Versuchen. Dieses Abschweifen von der directen Bahn muss die Möglichkeiten einer Infection in den entlegeneren Räumen um ein Beträchtliches verringert haben. Für die Praxis darf man aus diesen Versuchen entnehmen, dass man beim Verlassen infectionsverdächtiger Räume sich möglichst langsam entfernen muss und nicht ohne Aufenthalt in ein anderes nichtinficirtes Zimmer desselben Gebäudes gehen darf.

Eine weitere Reihe von Versuchen beschäftigt sich mit der Frage, wie weit Keime von einem Stockwerk zum anderen durch die natürlichen Luftströme gelangen können und zwar sowohl durch Treppen, wie auch durch offen stehende Fenster.

Die Versuchsanordnungen waren dieselben wie in früheren Versuchen. Die Exposition der Platten dauerte stets 2 bis 3 Stunden.

16*



6. Hineingelangen von Keimen aus der freien Luft in offene Fenster des ersten Stocks.

Während dieses Versuches wehte ein ziemlich starker Wind. Die Fenster des betreffenden ersten Stocks befanden sich etwa 6^{m} vom Erdboden, auf welchem Prodigiosus verstäubt wurde. Sie lagen in 2 Theilen des Gebäudes im rechten Winkel zu einander und zwar an der Ostwand des nördlichen Endes von Corridor *A* und an der Nordwand des Zimmers *L* (siehe Plan). Während der Versprühung wurde wahrgenommen, dass einzelne Windstösse kleine Wölkchen des Sprühstoffs aufwärts in der Richtung der offenen Fenster trieben. Die Platten lagen auf Tischen etwa 1^{m} innerhalb jedes Fensters. Auf der Platte im Eckfenster von Zimmer *L* entwickelten sich 11 Colonieen, im Fenster östlich davon keine. Auf der Platte im Eckfenster von Corridor *A* wurden 5 Colonieen gezählt, während im Fenster nördlich davon nur 1 Colonie festgestellt werden konnte. Dieses Ergebniss stimmte mit der oben erwähnten Windrichtung überein.

7. In diesem Versuch wurde die Spur der Keime aus einem inficirten Zimmer im untersten Stock des Gebäudes aufwärts durch das Gebäude selbst, also nicht durch die äussere Luft, verfolgt. Den Keimen wurde in diesem und den nachfolgenden Versuchen ein freier Durchzug gewährt, indem alle Thüren auf dem Wege offen gelassen wurden. Die Bahn, auf welcher Keime nachgewiesen werden konnten, war die folgende: Aus dem inficirten Zimmer durch die offene Thür in einen kleinen Vorplatz, von dort eine halbe Wendung rechts und eine Treppe von 14 Stufen hinauf zu einem Absatz; dann zwei halbe Wendungen (d. h. eine ganze Drehung) nach links und eine ähnliche Treppenflucht weiter hinauf; von dort in den Corridor *A*. Im Folgenden ist die Anzahl von Colonieen angegeben, welche sich auf einigen der auf diesem Wege ausgelegten Platten entwickelten. In dem kleinen Vorplatz gerade ausserhalb des inficirten Raumes 200, auf der ersten Treppenflucht 60, auf der zweiten 62, im Corridor der Treppe gegenüber 23.

8. In diesem Experiment wurde ebenfalls das Zimmer des letzten Versuchs inficirt, aber diesmal die Wanderung der Keime durch ein offenes Fenster des betreffenden Raumes verfolgt. Ein geringer Zug konnte mittels Rauch, der das Zimmer durch dasselbe Fenster verliess, constatirt werden. Die im Innern des Gebäudes eingeschlagene Bahn des letzten Versuchs wurde abgeschnitten, indem 3 Thüren auf dem Wege geschlossen wurden. In dem Stockwerk über dem inficirten Raume befand sich das Nordende des Corridors *A*, woran sich Zimmer *L* im rechten

Winkel anschloss. Die 3 Fenster in jedem dieser beiden Räumlichkeiten standen offen und Gelatineplatten waren etwa 1^{m} innerhalb und zwar in gleicher Höhe mit der Fensterbank ausgelegt. Es stellte sich heraus, dass Keime durch 5 dieser 6 Fenster eingedrungen waren. Abgesehen von dem Durchzug, der in dem betreffenden Zimmer im untersten Stock herrschte, war die äussere Luft ruhig, da kein merklicher Wind bestand. Die Fenster sind mit den kleinen Buchstaben *a*, *b*, *c* u. s. w. im Plane bezeichnet. Die sich ergebenden Werthe für Prodigiosuscolonieen waren in jedem *a*—1; *b*—0; *c*—8; *d*—16; *e*—10; *f*—2.

9. Die folgenden zwei Versuche beschäftigten sich nur mit den beiden in 7. erwähnten Treppenfluchten. Im ersten wurde die Versprühung am oberen Ende, im andern am Fuss der Treppe vorgenommen. In beiden waren Petri'sche Schälchen in ähnlichen Stellungen auf den Stufen vertheilt. Die Treppen selbst waren an allen Seiten von Steinwänden umgeben. Es stellte sich heraus, dass sich auf den Platten mehr Colonieen entwickelt hatten, wenn die Versprühung oben geschah als im zweiten Fall, wie auch naturgemäss zu erwarten war. In beiden Versuchen bestand ein geringer aufsteigender Luftstrom, den aber die sich absetzenden Keime wohl überwinden konnten, wenn man nicht annehmen will, dass auch ein absteigender Luftstrom vorhanden war, der aber nicht besonders nachgewiesen wurde.

10. In diesem Versuch wurde am Nordende des Corridors *A* Prodigiosus versprüht, wobei alle 3 Fenster offen blieben. Vorher waren Gelatineplatten innerhalb der Fenster in den über und unter dem inficirten Stock befindlichen Stockwerken aufgestellt, ebenfalls in den Fenstern des Zimmers *L* in demselben Stock. Das Ergebniss war wie folgt: Im oberen Stockwerk befanden sich 6 offene Fenster, die den Fenstern *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f* im Plane entsprechen. Die auf den Platten in jedem Fenster gefundenen Colonieen waren *a*—1, *b*—7, *c*—11, *d*—24, *e*—25, *f*—16.

Die drei in dem Stockwerk, in welchem die Versprühung vorgenommen war, belegenen Fenster *a*, *b*, *c*, welche den 3 Fenstern *d*, *e*, *f* des Corridors gegenüberlagen, von dem die Keime ausgingen, wiesen die folgenden Colonieen auf: *a*—1, *b*—3, *c*—1.

In dem unteren Stockwerk befanden sich ein offenes Fenster und eine offene Thür. Diese lagen direct unter Corridor *A*. In beide waren Keime eingedrungen, allerdings nur wenige, da 2 Platten des Fensters 1 bezw. 2 Colonieen, eine Platte innerhalb der Thür 1 Colonie zur Entwickelung kommen liessen.

Die äussere Luft war zu der Zeit des Versuchs vollständig ruhig. Auch der Corridor war frei von eigentlichem Zug. Nur eine ganz geringe



Luftbewegung konnte constatirt werden und zwar war bei jedem Fenster die obere Luftströmung nach innen und die untere nach aussen gerichtet. Sie war zweifellos durch geringe Temperaturdifferenzen zwischen innen und aussen bedingt.

Diese Versuche zeigen, dass, wenn auch in der Regel eine besondere Gefahr der Verschleppung von Infectionskeimen aus einem Stockwerk in das andere, sei es durch Treppen oder ausserhalb des Hauses, durch die freie Luft kaum besteht, immerhin eine solche unter besonderen Umständen wohl möglich ist.

II. Verbreitung von Keimen in der freien Luft.

Die Aufgabe der folgenden Versuche war, festzustellen, bis zu welcher Entfernung Keime in der freien Luft zu wandern vermögen, und die Wirkung des Windes auf ihre Vertheilung in der Atmosphäre zu beobachten. Im Anfang ist schon auf die Dürftigkeit früherer, über diesen Gegenstand angestellter Forschungen hingewiesen.

Die Ausführung solcher Untersuchungen ist naturgemäss ziemlich schwierig. Zunächst muss eine freie Fläche von möglichst grosser Ausdehnung gefunden werden. Glücklicher Weise bot sich für diesen Zweck ein grosser Militärexercirplatz ungefähr eine viertel Meile ausserhalb der Stadt Göttingen, der nur eine leicht wellige Oberfläche und einen dichten festgetretenen Grasboden hatte.

Das folgende Verfahren wurde in jedem Experiment angewendet:

Auf dem Exercirplatz angelangt, wurde zunächst die Richtung des Windes festgestellt und dann ein Punkt an der Windseite des Platzes zum Versprühen der Prodigiosuslösung gewählt. Eine grössere Anzahl nummerirter Agarplatten wurden nun auf dem Boden in wechselnden Entfernungen vom Mittelpunkt der Infectionsstelle aufgestellt, und zwar nach einem bereits zu Hause angefertigten Plane, indem die Nummern auf den Platten und dem Plane einander entsprachen, so dass eine Verwechselung nicht vorkommen konnte. Die Entfernungen wurden in Schritten abgemessen, da ein genaues Abmessen mittels Metermaasses bei den grossen Entfernungen sich als unpraktisch erwies. Ueberdies waren die genommenen Schritte möglichst gleichmässig, und bei mehreren mittels Metermaasses vorgenommenen Controllmessungen zeigte es sich, dass jeder Schritt etwa 1^{m} gleichkam, so dass die auf dem Plan vermerkten Entfernungen, obgleich in Schritten gemessen, sehr wohl Meter darstellen können, natürlich mit geringer Abweichung (höchstens 5 bei 100) nach oben oder unten. Beim Auslegen jeder Platte wurde der dazu gehörige Deckel entfernt und dicht bei seiner Platte gelassen. Die Mittellinie der

Platten befand sich immer möglichst genau in der Richtung des Windes, welche mittels Tabakrauches u. s. w. bestimmt wurde. Auf dieser Mittellinie entlang wurden an verschiedenen Punkten Plattenreihen im rechten Winkel ausgelegt, wie die beifolgende Skizze zeigt. Nachdem alle Platten aufgestellt und ihres Deckels entledigt waren, wurde schnell zum Mittelpunkt zurückgekehrt und von dort die Versprühung des Prodigiosus in einer Höhe von etwa 2 m vom Erdboden vorgenommen. Alsdann wurde die Schnelligkeit des Windes mit einem Anemometer bestimmt und dies in Zwischenräumen von 3 bis 4 Minuten während der ersten Exposition wiederholt. Die Expositionsdauer betrug in der Regel 30 Minuten. Dann wurden die Platten eingesammelt, zurück zum Laboratorium gebracht und bei 24° C. aufbewahrt. Um diese Versuche ohne Störung von Seiten des Militärs ausführen zu können, mussten Stunden gewählt werden, in denen kein Exerciren stattfand, d. h. entweder sehr früh am Morgen von 5 bis 7 Uhr oder Abends nach 6 Uhr. Beträchtliche Schwierigkeit bot sich bei zwei Gelegenheiten bezüglich des Windes. Nachdem alle Platten mit ihrer Centrallinie in der Windrichtung ausgelegt worden (eine Aufgabe, welche sich in den letzteren, eine weite räumliche Ausdehnung beanspruchenden Versuchen als eine keineswegs leichte erwies, da etwa eine Stunde auf ihre Ausführung verging) und die Versprühung beendet war, schlug der Wind plötzlich fast rechtwinklig zu seiner ursprünglichen Richtung um, so dass mehr als die Hälfte der Platten ausser Berechnung kam. In einem anderen Versuche änderte sich der Wind nur für eine oder zwei Minuten und kehrte dann zu seiner ursprünglichen Richtung zurück, ohne das Experiment weiter zu beeinträchtigen. Es zeigt sich, dass bei den ersten Versuchen die Entfernungen zu gering gewählt waren. Für die verschiedenen Experimente, ausschliesslich des ersten, sind Pläne (Figg. 2 bis 6) dieser Versuche beigefügt, die kaum einer weiteren Erklärung bedürfen. Die Windrichtung ist mittels gewellter Pfeile angegeben. Ein kleiner Stern bezeichnet das Centrum der Infection, von welchem aus die Keime versprüht wurden. Kleine schwarze Punkte deuten auf den verschiedenen Linien die Petri'schen Schälchen an. Die seitlich von den Platten auf der Mittellinie gesetzten Zahlen bezeichnen die Entfernung der betreffenden Platten in Metern vom Centrum der Infection. Die über den Punkten befindlichen Zahlen auf den Querlinien geben die Entfernung jeder Platte von der Mittellinie an, so dass man für die seitwärts ausgelegten Platten nicht ihre genaue Entfernung vom Infectionsmittelpunkt bekommt, aber doch eine ziemlich annähernde. Diejenigen Platten nun, auf welchen sich Prodigiosuscolonieen entwickelten, sind mit einem kleinen Kreis umgeben, und darunter ist in Klammern die betreffende Anzahl von Colonieen vermerkt.

Vor diesen Versuchen wurde in einem Garten neben dem hygienischen Institut noch ein Vorversuch angestellt, in welchem die weiteste Entfernung der Platten vom Mittelpunkt der Infection nur 30 m betrug. Platten wurden genau in der Windrichtung ausgelegt, ebenfalls hinter und seitlich von dem Mittelpunkt der Infectionsstelle. Es mag hier gleich Erwähnung finden, dass in fast keinem der Versuche Keime auf Platten gefunden wurden, welche zu beiden Seiten des Infectionsmittelpunktes auf Linien ausgelegt waren, die rechtwinklig zur Windrichtung den Mittelpunkt durchkreuzten, und dass in keinem Versuch Keime auf hinter dem In-

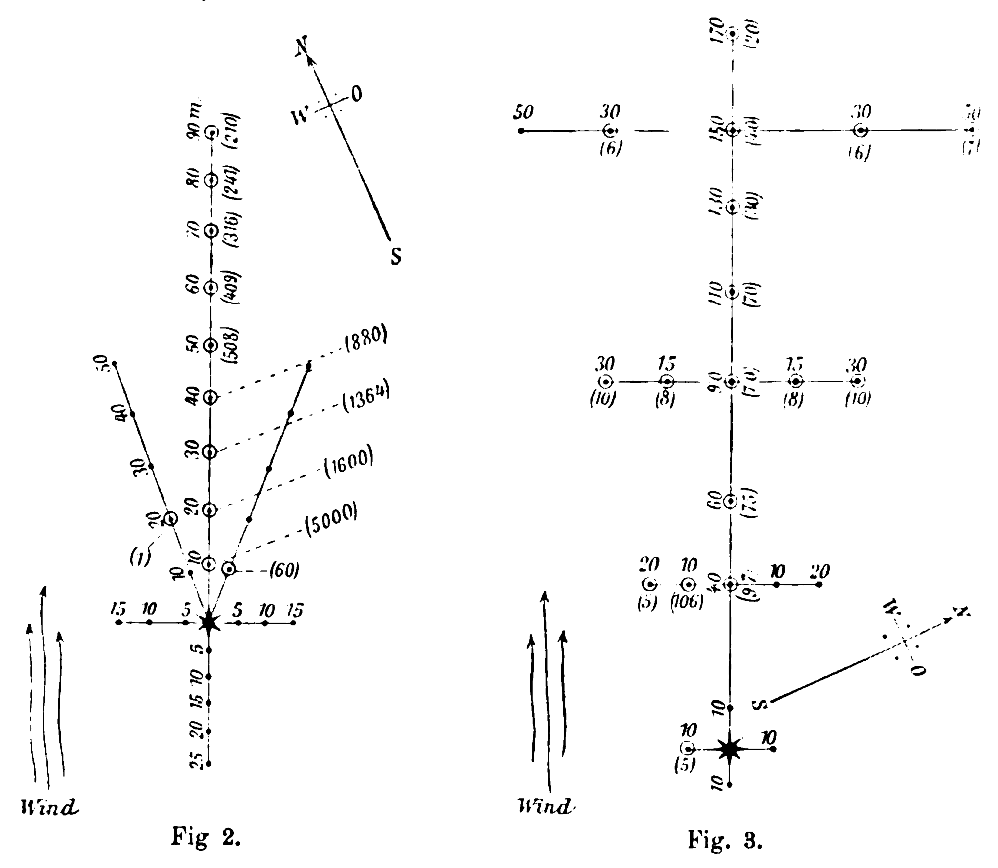


Fig 2. Fig. 3.

fectionsmittelpunkt, d. h. windwärts von demselben, angebrachten Platten festgestellt werden konnten. Demgemäss wurden in den nachfolgenden Versuchen die letzteren gänzlich ausgeschaltet und die seitlichen Platten auf eine oder zwei an jeder Seite beschränkt. Der Wind war leicht und beständig. Zeit: 11 Uhr Vormittags. Expositionsdauer 20 Minuten.

Resultat: Mehrere Keime entwickelten sich auf den am weitesten entfernten Platten, d. h. 25 und 30 m in der Windrichtung. Keine Keime auf hinter dem Infectionsmittelpunkt und rechtwinklig von demselben befindlichen Platten.



Zu dem ersten Versuch auf dem Exercirplatz ist Folgendes zu bemerken.

Zeit: 6 Uhr Morgens. Sehr nebeliger Morgen, so dass grössere Gegenstände auf etwa 100 ^{m} Entfernung fast unsichtbar waren. Wind leicht und beständig, Durchschnittsgeschwindigkeit 1·1 ^{m} pro Secunde. Expositionsdauer 15 Minuten.

Resultat: Jede Platte auf der Centrallinie war inficirt. Die entfernteste Platte (90 ^{m}) wies 210 Colonieen auf. Obgleich der Wind sehr leicht war, so erfolgte doch nur sehr geringe Verbreitung der Keime bis zu einer Entfernung von 40 bis 50 ^{m}, wie sich auf den seitlichen Platten zeigte. Nämlich bei 20 ^{m} auf der linken Reihe wurde nur eine Colonie und bei 10 ^{m} auf der rechten Reihe nur 60 Colonieen gefunden, während sich bei 20 ^{m} auf der Centrallinie 1600 Colonieen entwickelten. Die Platten der mittleren Reihe zeigen eine allmähliche Abnahme an Colonieen auf jeder derselben. Die Platten windwärts vom Mittelpunkt und direct zu beiden Seiten desselben blieben frei. (Siehe Fig. 2.)

Der zweite Versuch wurde mit grösseren Entfernungen vorgenommen.

Zeit 6 Uhr Morgens. Wieder dichter Nebel. Wind kaum wahrnehmbar (ca. 1 ^{m} in 5 Secunden), nicht ausreichend, das Anemometer in Bewegung zu setzen. Ungefähr 2 Minuten nach Beendigung der Versprühung schlug dieser sanfte Wind plötzlich in eine nordnordwestliche Richtung um (d. h. in eine der ursprünglichen fast entgegengesetzte), verblieb dort etwa 1 Minute und kehrte dann wieder zu seiner ersten Stellung zurück, augenscheinlich ohne das Experiment erheblich zu beeinflussen. Expositionsdauer 30 Minuten.

Resultat: Infection selbst auf der entferntesten Platte (170 ^{m}). Keime verbreiteten sich in seitlicher Richtung in nur geringem Grade, selbst bei 150 ^{m}, denn 50 ^{m} links von jenem Punkt entwickelten sich keine Keime. Sonderbarerweise blieb Nr. 10 auf der Centrallinie frei. Die Keime müssen trotz des geringen Lufthauches gänzlich darüber hinweg gegangen sein. (Siehe Fig. 3.)

Bei dem dritten Versuch wurden noch weitere Entfernungen genommen.

Anordnung: Zeit 8 Uhr Abends. Schöner, trockener Abend mit Sonne hinter Wolken. Wind: eine beständige Nordwestbrise, Durchschnittsgeschwindigkeit 1·5 ^{m} pro Secunde. Ungefähr 10 Minuten nach der Versprühung nahm der Wind eine mehr westliche Richtung an, was sehr ungünstig war, da diese veränderte Windrichtung die Keime zu jenem Theil des Feldes trug, auf welcher keine Platten seitlich ausgelegt waren, da ein Abhang ein weiteres Auslegen von Platten dort verhinderte. Der

Wind verblieb in dieser westlichen Richtung bis zum Ende des Versuchs. Expositionsdauer 30 Minuten.

Resultat: Wir sehen, dass die Anzahl inficirter Platten sehr gering ist, nur 4 im Ganzen zeigten Prodigiosuscolonieen, von der mittleren Plattenreihe wurde nur die entfernteste Platte inficirt, während 2 Platten rechts von der Centrallinie Keime erhielten. Hieraus lässt sich schliessen,

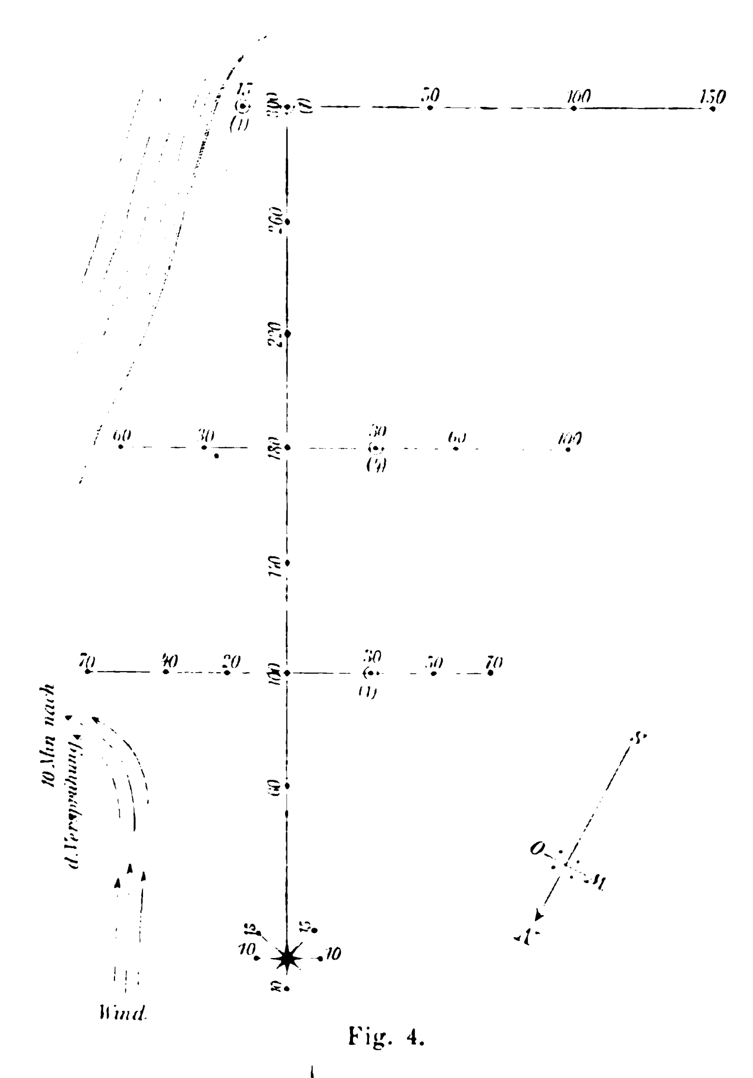


Fig. 4.

dass die mittlere Plattenreihe von vornherein nicht genau in der Richtung des Windes, sondern etwas links davon gewesen sein muss, während später der leichte Windwechsel die Keime auf die Centrallinie und links von derselben getragen haben mag, wie in dem Plan markirt ist. Ueberdies entfalteten die Keime bei diesem leicht verstärkten Winde anscheinend noch weniger Neigung zu seitlicher Verbreitung als im vorigen Versuche. (Siehe Fig. 4.)



Der vierte Versuch erstreckte sich über ein noch weiteres Feld. Obgleich wieder eines leider eintretenden Windwechsels wegen das Experiment theilweise seinen Zweck verfehlte, ist es doch recht instructiv.

Anordnung: Zeit 7 Uhr 45 Min. Abends. Schöner trockener Abend mit einem sehr ähnlichen Winde wie beim letzten Versuch. Jedoch ungefähr 2 Minuten nach Beendigung der Versprühung wurde der Wind frischer und änderte auch seine Richtung. Während er zuerst aus südsüdwestlicher Richtung gekommen war, d. h. in gerader Linie mit der

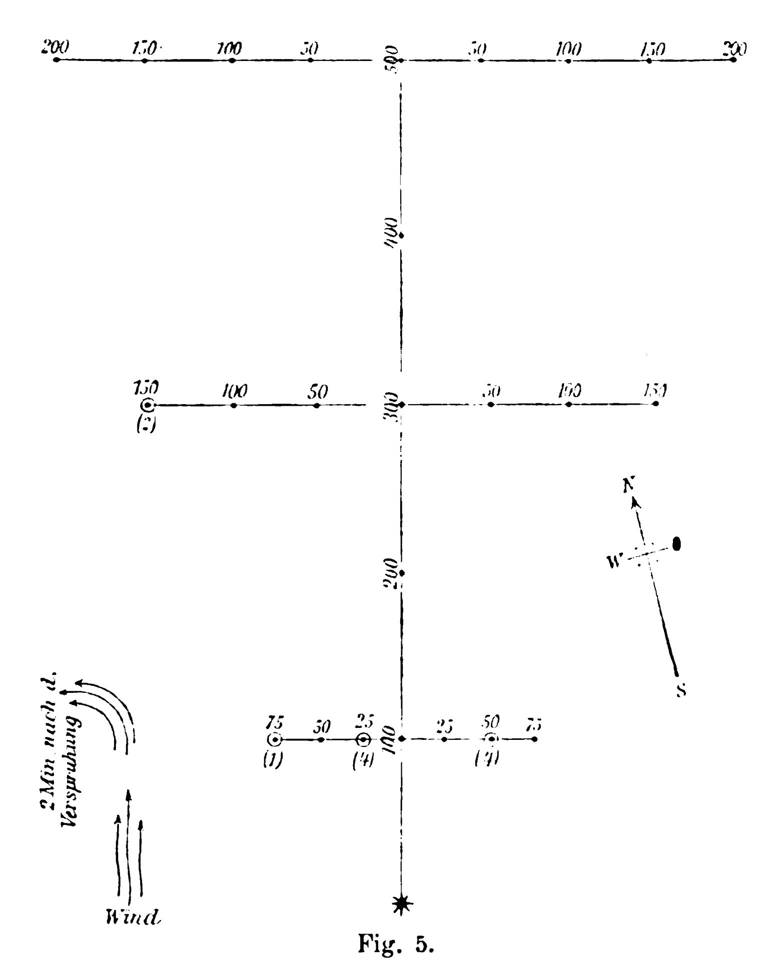


Fig. 5.

mittleren Plattenreihe (siehe Fig. 5), wandte er sich nun nach Westen und blieb so 15 Minuten, worauf eine zeitweilige Rückkehr zur ursprünglichen Richtung eintrat. Diese Rückkehr erfolgte unglücklicher Weise zu spät, da zu der Zeit zweifellos die Keime schon über die Grenzen des „Petri'schen Feldes“ hinaus getragen worden sind.

Resultate: Wie ich erwartet hatte, blieb die grosse Mehrzahl von Platten frei von Prodigiosus. Ich hoffte, dass sich möglicher Weise auf



der äusseren Linken der 500 m-Linie Keime finden würden, aber dies war nicht der Fall. Auf der äusseren Linken der 300 m-Linie aber entwickelten sich zwei Colonieen. Diese Platte muss ca. 330 m vom Mittelpunkt der Infection entfernt gewesen sein. 2 Platten auf der linken 100 m-Linie waren ebenfalls inficirt, eine 25 m von der Mittellinie und die andere 75 m von derselben. Die Infection der Platte 50 m **rechts** von

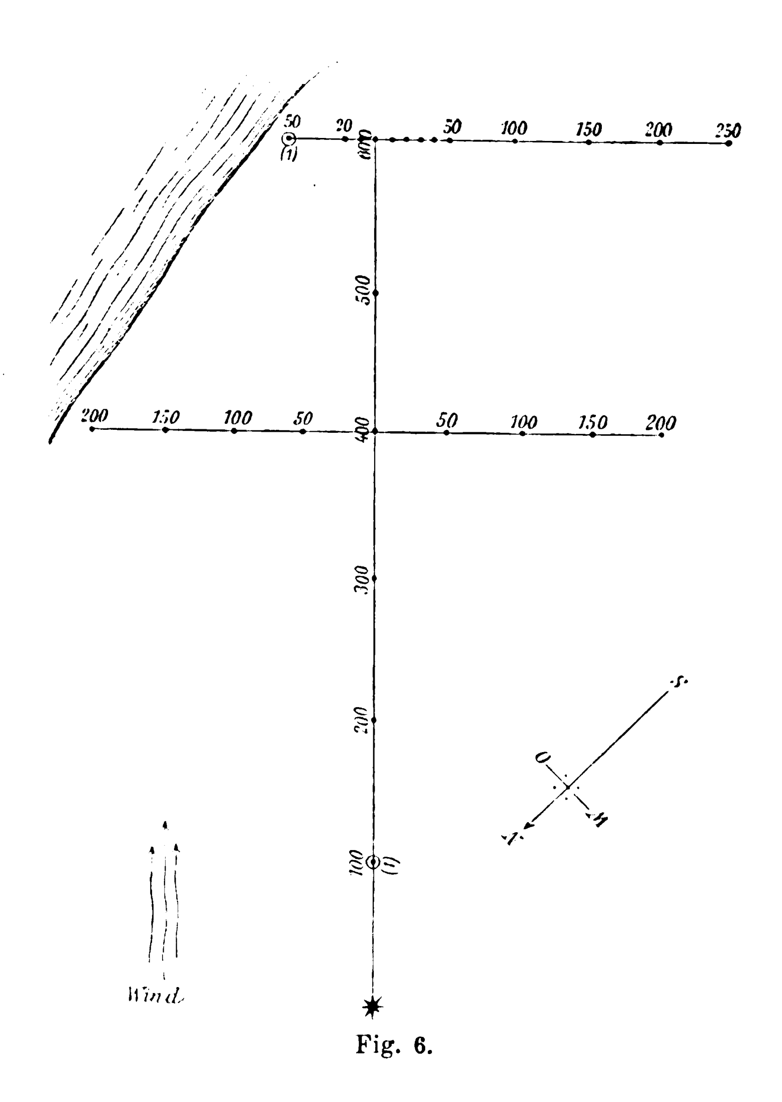


Fig. 6.

100 m der Mittellinie ist schwer zu erklären. Die Infection auf dieser Platte bestand aus einer kleinen Anhäufung von 4 oder 5 mehr oder weniger nahe bei einander liegenden Prodigiosuscolonieen, die mich zu der Ansicht führten, dass eine Fliege oder ein derartiges Insekt die Infection aus der schwebenden Masse von Keimen verschleppt und auf dieser Platte deponirt haben kann.



Beim fünften und letzten Versuch war die Anordnung die folgende:

Zeit 6 Uhr Nachmittags. Starker und steter Nordwestwind, durchweg beständig in seiner Richtung. Durchschnittsgeschwindigkeit 23 ^{m} pro Secunde. Weiteste Plattenreihe 600 ^{m} auf der Centrallinie entlang. Expositionsdauer 30 Minuten. (Siehe Fig. 6.)

Resultate: Nur 2 Platten wurden inficirt, nämlich eine bei 100 ^{m} der Mittellinie und die andere 50 ^{m} links von 600 ^{m} der Mittellinie. Aus demselben Grunde wie im dritten Versuch konnten die Platten auf der 600 ^{m}-Querlinie nicht weiter nach links ausgelegt werden. Die entfernteste Platte, die inficirt wurde, war vertical dem Wind gegenüber angebracht und zwar in einer Höhe von 70 ^{cm} vom Boden. Diese Stellung liess sich durch einen vorhandenen Zaun ermöglichen, zwischen dessen beiden Pfosten die Platte befestigt werden konnte. Es ist anzunehmen, dass, wenn alle Platten sowohl in diesem wie in den vorhergehenden, in der freien Luft angestellten Versuchen ähnlich, d. h. vertical und in einiger Entfernung vom Boden angebracht worden wären, ihrer nicht so viele gänzlich frei von Prodigiosus geblieben wären.

Aus den in der freien Luft angestellten Versuchen ist zu ersehen, dass eine schnelle seitliche Verbreitung einer Masse von in der Luft schwebenden Keimen, abgesehen von Windschwankungen, kaum vorkommt, dass eine derartige Bakterienansammlung vielmehr die Neigung zeigt, selbst bei anscheinend vollkommener Windstille in einem mehr oder weniger concentrirten Zustande weiter zu fliegen. Die in der freien Luft schwebenden Bakterienkeime stehen unter der absoluten Einwirkung der zu der Zeit herrschenden Luftströmungen, wie gering diese auch sein mögen, und können von ihnen auf grosse Entfernungen verschleppt werden, deren nachgewiesene grösste 600 ^{m} beträgt.

Zum Schluss sage ich Hrn. Prof. von Esmarch, der mir nicht nur die Anregung zu diesen Versuchen gab, sondern auch während ihrer ganzen Dauer, die sich über die Frühlings- und Sommermonate vorigen Jahres erstreckte, mir in gütigster Weise seine häufige Unterstützung und Kritik gewährte, meinen ergebensten Dank. Gleichzeitig möchte ich auch Hrn. Dr. Reichenbach, dem Assistenten am hygienischen Institute, für seine gütige Mühewaltung bei dieser Arbeit herzlich danken.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber die Erzeugung von Erysipel am Kaninchenohr durch Pneumokokken.

Von

Dr. **F. Neufeld,**
Assistenten am Institut.

Nachdem Fehleisen die Streptokokken aus menschlichen Erysipelfällen isolirt und mit den Reinculturen sowohl wiederum am Menschen, als auch am Kaninchenohr Erysipel hatte erzeugen können, galt beides lange Zeit hindurch als eine specifische Eigenschaft, welche nur den aus Erysipeln, nicht aber den aus anderen Krankheitsprocessen gezüchteten Streptokokkenstämmen zukäme. Eug. Fränkel[1] jedoch gelang es, am Kaninchenohr ein typisches Erysipel hervorzurufen durch Streptokokken, die aus einer eitrigen Peritonitis herstammten, und von Lingelsheim[2] zeigte, dass diese Fähigkeit Streptococcus longus-Stämmen der verschiedensten Herkunft eigen sei, wenn sie nur die geeignete Virulenz besässen. Es ist aber nicht richtig, diese Eigenthümlichkeit nur dem Streptococcus longus zuzuschreiben; man findet im Gegentheil nicht selten Streptokokken, deren Bouillonculturen ganz kurze Ketten und eine allgemeine Trübung des Mediums aufweisen, und die dennoch neben anderen Zeichen hoher Pathogenität auch die Fähigkeit haben, schon in kleinsten Dosen starke Erysipele bei Kaninchen zu machen. Bekanntlich haben dann Koch und Petruschky[3] auch bei Menschen durch Impfungen mit einem aus eitriger Peritonitis stammenden Streptococcus Erysipel erzeugen können.

Für das Kaninchenohr hat nun Petruschky gefunden, dass viele Stämme von Bacterium coli geeignet sind, an demselben eine fortschreitende Entzündung zu erregen, welche dem Erysipel durch Streptokokken durchaus gleicht.

[1] *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Nr. 25.
[2] *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XII.
[3] *Ebenda.* Bd. XXIII. S. 142.



Bei einer Durchsicht der älteren Litteratur fand ich, dass bereits vor langer Zeit derartige Befunde erhoben worden sind, die jedoch die herrschende Lehre von der völligen Gleichwerthigkeit des experimentellen Kaninchenohrerysipels mit dem Erysipel des Menschen und der streng specifischen Aetiologie beider Processe nicht hatten erschüttern können. Koch[1] war der erste, welcher am Kaninchenohr ein von ihm als „erysipelatösen Process" bezeichnete fortschreitende Entzündung hervorrief; dieselbe war durch einen nicht näher charakterisirten Bacillus aus Mäusekoth bedingt. Schon vorher hatte Lumkowski[2] mit verschiedenen Faulflüssigkeiten Impfungen in die Rückenhaut von Kaninchen vorgenommen und mehrmals fortschreitende Entzündungen entstehen sehen, die er als richtige Erysipele ansprach.

Durch Fehleisen[3] wurden diese „erysipelatösen Processe" streng von den eigentlichen Erysipelen getrennt: die letzteren seien auch am Kaninchenohr ausschliesslich durch den Erysipelstreptococcus bedingt. Diese Lehre wurde allgemein angenommen, nnd das war vielleicht der Grund, weshalb A. Fränkel[4], als er durch seine Diplokokken eine Entzündung des Kaninchenohres hervorrufen konnte, dieselbe in keine Beziehung zu erysipelatösen Processen brachte. Seither ist bekanntlich die Lehre von der Trennung der Streptokokken in Strept. erysipel. und Strept. pyogenes durch eine Reihe von Erfahrungen widerlegt worden, und es erschien bei dieser Sachlage nicht ohne Interesse, die erwähnten älteren Untersuchungen wieder aufzunehmen und zu sehen, ob man nicht, was das Erysipel des Kaninchenohres betrifft, noch einen Schritt weiter zu gehen und die Entstehung desselben auch durch andere Bakterienarten zuzulassen hat. Solche Bakterienarten hat nun Petruschky in seinen bereits erwähnten Versuchen unter der Bacterium coli-Gruppe ziemlich häufig gefunden.

Ich selbst untersuchte eine Anzahl von Bakterien, darunter Staphylokokken, Rothlauf, mehrere Stämme der hämorrhagischen Septicämie und andere mit negativem Erfolg, fand dagegen den Pneumococcus in hohem Grade geeignet, bei subcutaner Injection am Kaninchenohr eine fortschreitende, meist recht starke Entzündung zu erregen, welche ich als Ohrerysipel anzusprechen kein Bedenken trage. Dieselbe beginnt meist am Tage nach der Impfung, um am 3. bis 4. Tage ihren Höhepunkt zu erreichen. Bei stärkerer Entwickelung lässt sie das Ohr herabsinken und verwandelt es in eine dicke, teigig geschwollene Masse; bisweilen tritt auch, falls nicht frühzeitig der Tod erfolgt, ausgedehnte Nekrose ein. Aus

[1] *Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten.* 1878. S. 62.
[2] Virchow's *Archiv.* Bd. LX.
[3] *Die Aetiologie des Erysipels.* 1883.
[4] *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. X.



dem Gewebssaft der entzündeten Partieen lassen sich im Deckglaspräparat Diplokokken in typischer Lancettform nachweisen.

Falls die Entzündung recht stark ist, so unterscheidet sie sich allerdings von den bekannten Streptokokkenerysipelen durch die stärkere ödematöse Schwellung; das Ohr wird dadurch undurchsichtiger und schwerer, und die Hyperämie tritt weniger in den Vordergrund. Indessen ist dieses Verhalten nicht immer ausgeprägt, und andererseits sieht man auch Streptokokkenerysipele mit ähnlich starker teigiger Schwellung des Ohres, so dass ein Grund zu principieller Trennung nicht vorliegt.

Das Auffallende ist nun, dass entschieden ein viel grösserer Procentsatz von Pneumokokken als von Streptokokken diese Fähigkeit zu besitzen scheint. Denn wenigstens unter den für Kaninchen hochvirulenten Streptokokken findet man wohl häufiger solche, die ohne vorhergehende Localerkrankung durch Sepsis tödten, als solche, die bei Impfung am Ohr zunächst Erysipel und dann erst Sepsis erzeugen. So sind z. B. die in vielfachen Arbeiten benutzten Streptokokkenstämme von Petruschky, Marmorek, Belfanti, welche alle drei maximale Virulenz für Kaninchen besassen, keine Erysipelerreger, — wenigstens so lange sie sich auf der Höhe ihrer Virulenz befinden. Denn bei dem Petruschky'schen Streptococcus habe ich mehrfach beobachtet, dass derselbe bei langer Aufbewahrung im Eisschrank eine derartige Veränderung erlitt, dass er nunmehr bei Impfung am Ohre ein Erysipel erzeugte. Nach einigen Thierpassagen verlor er wieder diese Eigenschaft, und rief, wie früher, allgemeine Sepsis ohne jede Localreaction hervor. Hier ist also das Auftreten von Erysipel als der Ausdruck einer (vorübergehend) verminderten Virulenz aufzufassen. Entsprechend ist es Petruschky gelungen, einen Streptococcus, der zunächst Erysipelerreger war, durch Kaninchenpassagen zu so hoher Virulenz zu steigern, dass er nur noch Allgemeininfection bewirkte. Bei Pneumokokken habe ich derartiges nicht beobachtet; dieselben haben in meinen Versuchen durch Thierpassagen niemals ihre Fähigkeit, Erysipel zu erzeugen, eingebüsst.

Im Gegensatz zu den Streptokokken scheint bei dem Fränkel'schen Pneumococcus die Fähigkeit, Erysipel zu machen, die Regel und das Gegentheil die Ausnahme zu sein. Dass alle von mir daraufhin geprüften Fränkel'schen Diplokokken, soweit sie überhaupt für Kaninchen pathogen waren, diese Eigenschaft besassen, ist wohl nur ein Zufall, der bei der verhältnissmässig geringen Zahl der Untersuchungen möglich erscheint; wenigstens finde ich bei Mennes[1], dass die beiden, zu seinen Versuchen benutzten Pneumokokkenstämme bei Impfung am Ohr niemals Erysipel machten.

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXV.



Ich selbst habe negative Resultate nur bei solchen Stämmen gehabt, welche überhaupt gar keine Pathogenität für Kaninchen besassen. Solche Stämme von Diplococcus Fränkel, welche auch in grossen Dosen bei Kaninchen keine Krankheitserscheinungen machen, scheinen insbesondere als Erreger von Mischinfection in tuberculösen Lungen nicht ganz selten vorzukommen; sie können dabei für Mäuse eine maximale Virulenz besitzen. Von diesen (für Kaninchen) avirulenten abgesehen, habe ich mit 7 Pneumokokkenstämmen Ohrerysipel erzeugen können. Davon waren 2 aus der Leiche, 3 aus dem Sputum von typischen Fällen croupöser Pneumonie gewonnen, die beiden anderen stammten von Phthisikern mit Pneumokokken-Mischinfection. Die beiden letzteren, sowie einer der aus pneumonischen Sputum stammenden Diplokokken, zeigten den übrigen gegenüber eine deutlich geringere Virulenz, insofern als Kaninchen, welche mit mittleren Dosen (ca. 0·001) von Bouilloncultur oder mit einem Tropfen aus dem Herzblut einer inficirten Maus am Ohr geimpft wurden, nicht immer tödtlich erkrankten, sondern öfters nach Ueberstehen eines Erysipels leben blieben. Diese überlebenden Thiere zeigten einen beträchtlichen Grad von Immunität, auch gegenüber anderen hochvirulenten Pneumokokken. Diese letzteren dagegen tödteten nicht vorbehandelte Kaninchen ausnahmslos auch in starken Verdünnungen, die man, wie es scheint, so weit treiben kann, als noch überhaupt die Existenz lebender Keime in dem betreffenden Flüssigkeitsquantum zu erwarten ist. Bei dem relativ schwachen Wachsthum, welches die Pneumokokken meist zeigen, liegt diese untere Grenze etwa bei 0·0000001 bis 0·000001 ccm einer gut gewachsenen 24 bis 48stündigen Bouilloncultur.

Wenn ich somit glaube, dass man unter den Fränkel'schen Diplokokken relativ häufiger geeignete Culturen zur Erysipelerzeugung am Kaninchen findet, als unter Streptokokken, so habe ich andererseits eine absolute Constanz dieses Phänomens vermisst, wie man sie an gewissen Streptokokkenstämmen beobachtet. Ich selbst habe Streptokokkenculturen besessen, die in jeder Dosis Erysipel hervorrufen und, am Ohre verimpft, niemals blosse Sepsis ohne vorhergehende Localaffection bewirkten. Im Gegensatz dazu kam es, allerdings selten, bei meinen Pneumokokken vor, dass dieselben, insbesondere bei kleinen Dosen, gelegentlich die Versuchsthiere ohne vorausgehendes Erysipel durch Allgemeininfection tödteten. Auch die Stärke des Erysipels war ziemlich ungleichmässig: meist trat die locale Affection bei grösseren Dosen schneller und stärker auf, als bei kleineren, bisweilen war sie umgekehrt bei kleineren Dosen ausgeprägter. Kaninchen mit grossen Ohren und lockerer Befestigung der Haut zeigten stärkere Erysipele, als solche mit kleinen Ohren und straffer Haut.

Zur Farbstoffproduction des Bacillus pyocyaneus.

Von

Dr. **Anton A. Christomanos**
in Athen.

Das auffällige Phänomen, dass eine gelbliche, grünlich fluorescirende Bouilloncultur des Bacillus pyocyaneus, die ich aus dem Exsudate eines mit acuter eiteriger Gonitis behafteten jungen Mannes erhielt, beim Schütteln plötzlich eine bläulich-smaragdgrüne Farbe annahm, bewog mich, die Ergebnisse der ausführlichen Arbeit von K. Thumm[1], nach welcher alle fluorescirenden Bakterien, unter anderen auch der Bacillus des blauen Eiters, nur einen gelblichen aber keinen blauen Farbstoff produciren sollten, einer abermaligen Prüfung zu unterziehen.

Thumm behauptet nämlich, dass die verschiedenen Färbungen der Culturen dieser Bakterienarten auf einen einzigen gelben Farbstoff zurückzuführen sind, dessen concentrirte, wässerige Lösung orangegelb, die verdünnte gelb ist. Beide Lösungen fluoresciren blau. Die blaue Fluorescenz kann aber durch Zusatz eines Alkalis in eine grüne übergehen. Diese Veränderung geht auch thatsächlich vor sich, wenn die dazu nöthige Alkalimenge allmählich von den Bakterien selbst erzeugt wird, und bekanntlich sind alle fluorescirenden Bakterienarten durchweg Alkalibildner. Die anfänglich vorhandene blaue Fluorescenz geht somit, durch Einwirkung des Alkalis auf den gelben Farbstoff, in eine grüne über, und aus dieser Einwirkung, nicht aus dem Vorhandensein mehrerer Farbstoffe, wie bisher angenommen wurde, will nun Thumm die verschiedenen Färbungen der Culturen dieser Bakterien im Allgemeinen und die des Bac. pyocyaneus insbesondere erklären.

---

[1] K. Thumm, *Beiträge zur Biologie der fluorescirenden Bakterien.* Karlsruhe 1895.



Während nun Nägeli[1], Ledderhose[2], Kunz[3], Ernst[4], Girard[5], Gessard[6] und mehrere andere Autoren den beim Schütteln einer Bouilloncultur des Bac. pyocyaneus auftretenden blauen, in der gelblichen Bouillon jedoch grün erscheinenden, Farbstoff aus der Oxydation einer in den Culturen enthaltenen Leukosubstanz durch den Luftsauerstoff zu Pyocyanin ableiten, behauptet Thumm, dass bei dieser Gelegenheit nur eine grüne Fluorescenz aufzutreten pflegt. Das ausschliesslich an der Oberfläche gebildete Alkali (Ammoniak) vertheilt sich beim Schütteln in der ganzen Cultur und wirkt, im oben erwähnten Sinne, auf den gelben, ebenfalls an der Oberfläche gebildeten, rascher jedoch als das Alkali in die Tiefe dringenden Farbstoff ein. Er widerspricht demnach allen über die Farbstoffproduction des Bac. pyocyaneus bisher giltigen Annahmen und negiert die Existenz des allgemein bekannten Pyocyanins, dessen Bildung doch so auffallend ist, dass die Vermuthung, dasselbe wäre von den besten Bakterienforschern, welche sich mit diesem Thema befasst haben, dennoch nicht gesehen worden, als unmöglich gelten muss. Ich würde die Resultate, zu denen Thumm gelangt ist, nur dann erklären können, wenn ich annehmen dürfte, dass dieser Forscher zufällig nicht die Pyocyanin erzeugende Abart dieses Bacillus in seinen Händen hatte. Dies scheint mir aber um so wahrscheinlicher, als auch ich, bei der Bestellung von Culturen des Bac. pyocyaneus α und β, aus zwei der bestrenommirten bakteriologischen Instituten, Bakterien erhielt, die in den gewöhnlichen Nährmedien keinen blauen Farbstoff, sondern nur die blaue und die grüne Fluorescenz, neben einem gelben Farbstoff, in der von Thumm genau angegebenen Reihenfolge producirten.

Beim näheren Studium des Gegenstandes überzeugte ich mich, dass auch in den Arbeiten der meisten übrigen Autoren, trotz Congruenz der Resultate in ihren Hauptzügen, Meinungsverschiedenheiten genug aufzuzeichnen sind, deren Studium und Erklärung von Interesse sein dürfte.

Im Folgenden sei es mir erlaubt, einige zu diesem Zwecke angeführte Untersuchungen mitzutheilen.

---

[1] C. v. Nägeli, *Untersuchungen über niedere Pilze.* München-Leipzig 1882.

[2] G. Ledderhose, Ueber den blauen Eiter. *Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie.* 1888. Bd. XXVIII.

[3] Kunz, Bakteriolog.-chemische Untersuchung einiger Spaltpilzarten. *Sitzungsberichte der Wiener Akademie der Wissenschaften.* 1880. Bd. XCVII.

[4] P. Ernst, Ueber einen neuen Bacillus des blauen Eiters. *Diese Zeitschrift.* Bd. II.

[5] Girard, *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie.* 1876. Bd. VII.

[6] C. Gessard, De la pyocyanine et son microbe etc. *Thèse de Paris.* 1882. Nr. 248. — *Compt. rend.* 1882. T. XCIV. Nr. 8. — *Bulletin médical.* 1899. Nr. 55.



Was zunächst die morphologischen Eigenschaften dieses von Gessard[1] entdeckten Mikroorganismus betrifft, so wissen wir, und die eigenen Untersuchungen stimmen mit den bisher bekannten vollkommen überein, dass Grösse und Gestalt dieser Spaltpilze ganz auffallend sich verändern können, je nachdem man der Nährbouillon verschiedene Substanzen zusetzt, wie dies Guignard und Charrin[2] gezeigt haben, dass sie sich nur durch Theilung vermehren, wie auch Jakowski[3] aus dem constanten Fehlen von Sporen schliesst, dass sie Eigenbewegungen besitzen, welche ihnen wahrscheinlich von endständigen Geisseln mitgetheilt werden, und dass sie sich mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen gut färben lassen.

Die biologischen Eigenschaften sind dagegen viel complicirter als die morphologischen und deren Ermittelung und Verständniss daher viel schwieriger. Man unterscheidet bekanntlich in dieser Hinsicht, seit der Ernst'schen Arbeit, zwei Varietäten oder Unterarten, den Bac. pyocyaneus α und den Bac. pyocyaneus β, und es sei von vornhinein erwähnt, dass der Spaltpilz unserer Culturen mit dem Ernst'schen β-Bacillus vollkommen übereinstimmte.

Durch das Plattenverfahren wurde er zunächst von den übrigen im Sekrete der Wunde unseres Kranken enthaltenen Keimen befreit und isolirt in Bouillon, Gelatine, Agar und auf Kartoffeln cultivirt. Das Studium seiner Farbstoffproduction war in mehrfacher Beziehung anregend, ein voller Einblick in dieselbe liess sich aber erst durch Vergleichung dieser Culturen mit Culturen des Bac. pyocyaneus α gewinnen.

Die Bouilloncultur zeigte im Culturschrank, bei einer Temperatur von 32° C., schon nach 24 Stunden eine deutliche, gleichmässig vertheilte, weissliche Trübung, während am zweiten und noch mehr am dritten Tage neben der Zunahme der Trübung auch die Farbe der früher ganz blassen Bouillon deutlich gelblich wurde. Gleichzeitig erschien eine, an der Oberfläche am stärksten ausgesprochene, grünliche Fluorescenz. Vom vierten, häufiger aber erst vom fünften Tage an, trat an der Oberfläche der nunmehr stark getrübten und von einem weisslichen Häutchen

---

[1] Gessard, a. a. O. — Ausserdem *Annales de l'Institut Pasteur.* 1890. p. 65.

[2] Guignard et Charrin, Sur les variations morphologiques des microbes. *Compt. rend. de l'Acad. des sciences.* 5 Déc. 1887.

[3] M. Jakowski, Beiträge zur Lehre von den Bakterien des blauen Eiters. *Diese Zeitschrift.* Bd. XV. S. 480.

[4] Siehe auch die *Bakteriologische Diagnostik* von Lehmann und Neumann. 1896. Bd. II. Taf. 29. — Diese Geisselfäden konnte ich jedoch, trotz wiederholter Versuche, mir nicht zur Ansicht bringen; dasselbe berichtet auch Jakowski, a. a. O. S. 48.



bedeckten Cultur eine grünliche Verfärbung auf. Diese anfänglich hellgrüne und später smaragdgrüne Farbe der oberen Schichten ging allmählich in eine dunkelblaugrüne Verfärbung der ganzen Cultur über. Dazu war jedoch stets ein Zeitraum von 2 bis 3 Wochen nothwendig.

Bei Zimmertemperatur machten die Culturen dieselben Veränderungen durch, nur benöthigte ihr Auftreten einen viel längeren Zeitraum. Auch die Menge der zur Kultur verwendeten Flüssigkeit übte einen Einfluss aus auf das langsamere oder raschere Erscheinen des Pyocyanins. In grösseren $^1/_4$ bis $^1/_2$ Liter Culturflüssigkeit enthaltenden Kolben wurde nämlich viel später, erst nach 12 oder mehreren Tagen, die erste Spur der grünen Verfärbung beobachtet, und dies selbst dann, wenn das zur Impfung verbrauchte Material der Menge der Culturflüssigkeit so ziemlich analog war. Es scheint somit, dass weder das Pyocyanin noch dessen Leukosubstanz von vornherein gebildet werden, sondern erst dann, wenn gewisse Stoffe (Sauerstoff oder leicht Sauerstoff abgebende Substanzen) der Nährflüssigkeit durch die sich vermehrenden Bacillen verbraucht oder andere gebildet worden sind, wodurch die Bacillen, unter gewissen Bedingungen, zur Erzeugung des Farbstoffes gereizt werden.

Schüttelt man durch einige Sekunden eine an der Oberfläche leicht grünlich verfärbte Kultur, so wird mit einem Male die ganze Flüssigkeit schön moosgrün, während eine an der Oberfläche schon lebhaft grüne Bouillon prachtvoll smaragd- oder auch blaugrün wird. Hat das verwendete Nährmedium eine blässere Eigenfarbe, dann bekommen die Culturen nach dem Aufschütteln einen mehr bläulichen Farbenton.

Hier sei noch erwähnt, dass ältere schon in toto dunkelgrüne Culturen ihre Farbe durch Schütteln nicht mehr verändern. Lässt man aber solche ältere Pyocyaneusculturen noch einige Zeit lang stehen, dann geht die dunkelgrüne Farbe allmählich in eine schmutzig-dunkelbraungrüne über; zuletzt verschwindet die grüne Nüance ganz, und die Bouillon wird wieder etwas heller und von rein brauner Farbe. Durch Schütteln werden solche Culturen nicht mehr verändert.

Schüttelt man eine grün werdende oder eine ältere, an sich schon grüne Cultur mit etwas Chloroform durch, so färbt sich dies letztere, wie bekannt, schön blau, blässer oder tiefer, je nach dem Alter der Cultur und der vorhandenen Pyocyaninmenge. Die Bouillon selbst wird dabei schmutziggelblichgrau (Gessard, Ernst u. s. w.). Zwischen dem Chloroform und der darüberliegenden Flüssigkeitsschicht sammelt sich eine dritte (Ernst a. a. O. S. 379) Schicht an, welche aus kleinen nicht zusammengeflossenen Chloroformtröpfchen besteht, deren Zusammenfliessen durch feine, aus den Bakterien der Cultur und sonstigen ungelösten Stoffen entstandene Hüllen verhindert wird.



Der in Chloroform gelöste Farbstoff ist das von Fordos[1] entdeckte Pyocyanin. Beim langsamen Verdunsten des Chloroforms bilden sich, wie allgemein bekannt ist, feine azurblaue Nadeln und Rhomben, die Pyocyaninkrystalle, welche nach längerem Stehen, rascher noch beim Einbetten in Xylolcanadabalsam, ihre blaue Farbe verlieren und bereits unter dem Auge des Beobachters, bei mikroskopischer Untersuchung, ihre Form beibehaltend, in die gelbliche Pyoxantose übergehen.

Schüttelt man das pyocyaninhaltige Chloroform mit einer kleinen Menge angesäuerten Wassers, so verschwindet die blaue Farbe des ersteren sofort, das Chloroform entfärbt sich, während die darüberliegende wässrige Schicht schön rosenroth wird. Durch einige Tropfen Ammoniak kehrt die blaue Farbe zurück, und nun kann das wiederhergestellte Pyocyanin vom Chloroform abermals aufgenommen werden. Die Pyocyaninlösungen werden nach einiger Zeit durch den Luftsauerstoff entfärbt.

Nach Ledderhose[2] ist das Pyocyanin eine Base und hat vermuthlich die empirische Formel $C_{14}H_{14}N_2O$. Ist dasselbe aber wirklich eine Base, die durch Alkalien frei wird, so muss ihre Verbindung mit Säuren, das Pyoerythron, ein Salz sein, dessen Lösungen rothgefärbt und viel beständiger sind als die des Pyocyanins. Das Salz selbst krystallisirt nicht und lässt sich nicht in Chloroform, leicht dagegen in Alkohol und Wasser lösen. Aus älteren, schon braun gewordenen Culturen, ist kein Pyocyanin mehr zu gewinnen.

Auch in seinen Gelatine-, Agar- und Kartoffelculturen stimmte der von mir gezüchtete Bacillus mit dem von Ernst beschriebenen und von Ledderhose angenommenen Bac. pyocyaneus β vollkommen überein. Selbst das Chamäleonphänomen, welches Jakowski[3] nicht beobachten konnte, vermochte ich genau zu verfolgen.

Die Reindarstellung des Pyocyanins beweist aber am Besten, dass wohl nur ein Irrthum vorliegen könnte, wenn Thumm die Bildung dieses Farbstoffes ganz in Abrede stellt. Aus der Vergleichung der eigenen Culturen mit denen des Bac. pyocyaneus α[4] überzeugte ich mich auch, dass der genannte Autor mit Culturen dieses Bacillus gearbeitet hat, oder mit solchen, die, sei es durch ihre verschiedene Race, sei es durch längere

---

[1] Fordos, *Compt. rend.* T. LI. p. 215 et T. LVI. p. 1128.

[2] Ledderhose, a. a. O. (aus dem pikrinsauren Salze bestimmt) S. 226.

[3] Jakowski, a. a. O. S. 482.

[4] Ich liess mir vom Kràl'schen Institute in Prag Culturen des Bac. pyocyaneus-α und des Bac. pyocyaneus-β senden. Beide glichen sich jedoch ungemein, fluorescirten blau und grün und bildeten kein Pyocyanin. Ich bekam auch eine aus dem Würzburger bakteriologischen Institute stammende Bac. pyocyaneus-Cultur, welche ebenfalls, ohne Pyocyanin zu produciren, stark fluorescirte.

Züchtung, sei es endlich durch andere Umstände, kein Pyocyanin mehr, sondern lediglich den fluorescirenden Farbstoff erzeugten. Durch die interessanten Untersuchungen Gessard's wissen wir aber, dass der Bac. pyocyaneus in verschiedenen Racen erscheint und nur Pyocyanin oder nur den fluorescirenden Farbstoff, oder beide, oder gar keinen Farbstoff bildet, je nachdem er auf pepton-, auf albuminhaltigem oder einem gemischten Nährboden cultivirt wird, den Thierkörper passirt[1] oder endlich auf 57 bis 58° erwärmt wird. Wiederherstellung von günstigen Ernährungsbedingungen bringt jedoch in den meisten Fällen eine Cultur zu Stande, in der beide Farbstoffe gleichmässig vorhanden sind.

Auch Mühsam und Schimmelbusch[2], Noesske[3], Schürmeyer[4] u. a. Autoren negiren im Einklange mit Gessard[5] die Existenz verschiedener, präexistirender und scharf abgegrenzter Varietäten. Sie behaupten vielmehr, dass die einzelnen Bakterien jeder Pyocyaneus-Cultur in ihren Eigenschaften um ein Geringes von einander differiren, und wenn zufällig in den Culturen, durch die jeweiligen Züchtigungsbedingungen, das ein Mal diese und das andere Mal jene, etwas verschiedene Eigenschaften besitzende Bakterien das Uebergewicht gewinnen, dann kann leicht die ganze Cultur als einer anderen Race angehörig erscheinen. Bringt man aber diese, scheinbar verschiedenen Racen in glycerinhaltigen Agar, so bildet sich nach Gessard[6] stets wieder Pyocyanin, wodurch die Einheit der Species Bac. pyocyaneus klar hervortritt.

Dem gegenüber muss ich hervorheben, dass die Ergebnisse vorliegender Untersuchung mit der Ernst'schen Auffassung vollkommen übereinstimmen. Ernst unterscheidet zwei Varietäten oder Spielarten des Bac. pyocyaneus, den α- und den β-Bacillus, deren Merkmale so charakteristisch sind, dass er (a. a. O. S. 381) „niemals auch nur im Geringsten im Zweifel war, welche der beiden Racen vorlag, niemals blassten Charaktere ab zu Gunsten einer Annäherung". Auch ich konnte niemals ein Uebergehen der einen Race in die andere, trotz zweijähriger Züchtung unter den ver-

---

[1] Vgl. auch Jakowski, S. 484—485.

[2] Mühsam u. Schimmelbusch, *Archiv f. klin. Chirurgie.* 1893. Bd. XLVI. S. 677 ff.

[3] Noesske, *Beiträge zur klin. Chirurgie.* Bd. XVIII.

[4] Schürmeyer, *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XX. S. 281 ff.

[5] Gessard, Microbes chromogènes à pigments solubles. *Bulletin médicin.* 1899. Nr. 55. p. 651.

[6] Ich konnte diesen Satz nicht bestätigt finden. Glycerin-Agar rief bei denjenigen Stämmen, welche auch sonst kein Pyocyanin producirten, d. i. bei der α-Race des Bac. pyocyaneus, keine Farbstoffbildung hervor, eher verblasste um ein Geringes der sonst reichlich farbstoffbildende Stamm (der Bac. pyocyaneus β).

schiedensten Ernährungsbedingungen, beobachten. Stets konnte ich ganz sicher (bei Anwendung der gewöhnlichen Nährböden, Bouillon, Agar, Gelatine, Kartoffel) die eine von der anderen unterscheiden.

Die Unterscheidungsmerkmale, welche dies ermöglichten, beschränkten sich jedoch nicht nur auf das schnellere oder langsamere Wachsthum, auf die schnellere oder langsamere Verflüssigung der Gelatine und die verschiedene Farbstoffproduction, sondern auch auf die morphologischen Charaktere der Culturen, welche bisher als gar nicht oder nur wenig verschieden beschrieben werden.

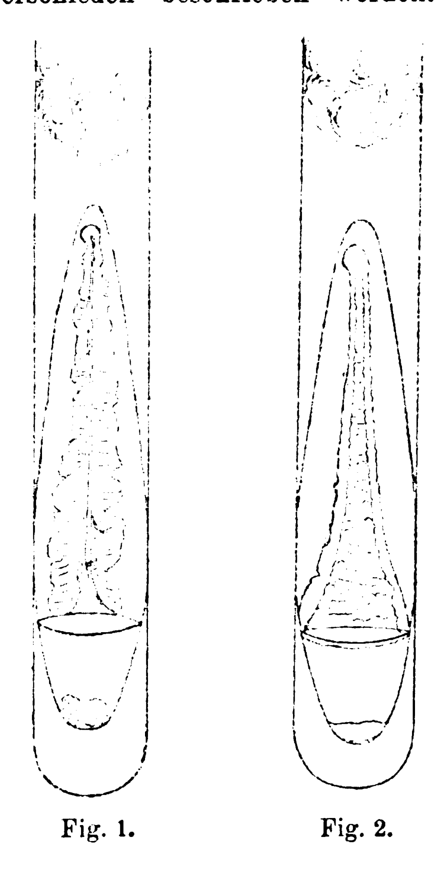


Fig. 1. Fig. 2.

Fertigt man auf Agar Strichculturen des Bac. pyocyaneus α, so bemerkt man, dass der Strich sehr bald sich zu einer nach oben zu spitzen, vogelfederartigen Figur umbildet, deren axialer Theil prominirt, während beide Seiten abgeflacht, fein gerippt und am Rande ausgebuchtet erscheinen (vgl. Fig. 1). Die Colonie selbst ist weisslichgrau, das Nährmedium gelb, grünlich fluorescirend.

Beim Bac. pyocyaneus β ist die Strichcultur anfangs der vorerwähnten sehr ähnlich, sie verändert sich aber bald in der Weise, dass die axialen, wellig gezeichneten Partieen flacher und durchscheinender erscheinen, während die Peripherie der Colonie compacter wird und in Form eines peripheren, weisslichgrauen Bandes die ganze Colonie umgiebt (vgl. Fig. 2). Diese letztere selbst ist grauweiss, während der Culturboden intensiv blaugrün gefärbt ist.

Bei künstlicher (Gas)-Beleuchtung verliert bekanntlich die erstere Cultur ihre grünliche Fluorescenz und erscheint blassgelblich, während die β-Cultur ihre grüne Farbe unvermindert beibehält.

Dass dennoch die Bacillen beider Culturen auf's Engste mit einander verwandt sind und eigentlich einer einzigen Art angehören, geht aus folgendem Experimente hervor, welches ich aus Anlass der auf S. 69[1]

[1] A. a. O.

ausgesprochenen Behauptung Thumm's[1] ausführte. Ich benützte zunächst die unveränderte von Gessard[2] empfohlene Nährflüssigkeit und bereitete ausserdem noch drei Lösungen, in denen ich der Reihe nach je eines der drei anorganischen Salze, aus denen sie neben bernsteinsaurem Ammon besteht, wegliess. Die damit versehenen Röhrchen wurden mit den Nummern I, II, III und IV bezeichnet und am 8. November 1899 mit dem verschiedenen mir zu Gebote stehenden Materiale geimpft.

	I	II	III	IV
Ammonii succinici . . .	2·00	2·00	2·00	2·00
Calcii chlorati	0·25	—	0·25	0·25
Kalii phosphor.	1·00	1·0	—	1·00
Magnesii sulfur.	0·50	0·50	0·50	—
Aquae	200·00	200·00	200·00	200·00

1. Bacillus pyocyaneus α (Bac. pyofluorescens) Gessard. In den mit den Nrn. I, II und IV bezeichneten Röhren trat 24 Stunden nach der Impfung bei gewöhnlicher Temperatur eine leichte Trübung auf, welche nach 48 Stunden deutlicher wurde. Nach 72 Stunden ward die Flüssigkeit in Nr. I und IV milchig getrübt und zeigte bereits eine bläuliche Fluorescenz. Bei Nr. II erschien die Trübung etwas weniger ausgesprochen, während in den mit Nr. III bezeichneten Röhren die Flüssigkeit fast vollkommen klar blieb. Am sechsten Tag zeigte Nr. I starke Trübung, gelbliche Verfärbung des Inhaltes und eine grünliche Fluorescenz, Nr. II war schwächer getrübt, Nr. III war noch ganz klar, während Nr. IV sehr starke Trübung bei geringer Fluorescenz aufwies. Sechs Monate nach der Impfung (im April 1900) zeigten Nr. I und IV starke Trübung, gelbliche Verfärbung des deutlich und charakteristisch aromatisch riechenden Inhaltes und grünliche Fluorescenz. An der Oberfläche der etwas dicklich gewordenen Culturflüssigkeit haben sich kleinere und grössere, rhombische, farblose Krystalle ausgeschieden, von denen einzelne sich zu Boden gesenkt haben. Die schimmernden Flächen dieser

[1] Thumm behauptet, dass die meisten Forscher nur deswegen mehrere (2–3) Pigmente aus ihren Culturen isoliren konnten, weil sie mit complicirten organischen Verbindungen (Bouillon, Agar, Gelatine) arbeiteten, in denen aus der Zersetzung des Eiweissmoleküls gefärbte Körper in geringer Menge leicht gebildet werden können. In den von ihm angewendeten einfachen Nährlösungen können aber solche Pigmente nicht entstehen, und die bei Abwesenheit der phosphorsauren Salze auftretende blaue Farbe erklärt Thumm einfach als Lichtbrechungserscheinung, da doch jede leicht getrübte Flüssigkeit einen blauen Schimmer zeigt (a. a. O. S. 79).

[2] Vgl. die Arbeit Thumm's S. 12.



Krystalle erscheinen fein gerippt. Durch Schütteln wird das Aussehen der Cultur nicht wesentlich verändert. An Chloroform wird kein Pyocyanin abgegeben.

Bei den mit Nr. II versehenen Röhren sind ungefähr dieselben Veränderungen eingetreten[1], während bei den phosphorfreien, mit Nr. III markirten, die Flüssigkeit zwar klar blieb, jedoch eine schön blaue Farbe annahm. Bodensatz spärlich, durch Schütteln wird derselbe aufgewirbelt und der Inhalt dadurch etwas getrübt, die blaue Farbe wird aber dadurch nicht verändert. Keine Krystallbildung[2], keine Fluorescenz, keine Geruchsentwickelung. An Chloroform wird reichlich Pyocyanin abgegeben.

Im Juli 1900 „status idem".

2. Auch die selbst gezüchteten Culturen des Bac. pyocyaneus β, welche in den gewöhnlichen Nährmedien so sehr von denen des Bac. pyocyaneus α abweichen, glichen jetzt den oben beschriebenen fast gänzlich. Auch hier trübten sich die mit I, II und IV bezeichneten Röhren ziemlich stark und schon nach 72 Stunden war eine deutliche, grünliche Fluorescenz wahrzunehmen. Gleich wie bei Bac. pyocyaneus α, blieben auch hier die sub Nr. III Röhren lange Zeit hindurch vollkommen klar und farblos, so dass man meinen könnte, sie wären steril geblieben, bis nach mehreren Wochen, bei ganz leichter Trübung, die blaue Farbe erschien und eine viel grössere Intensität, als beim erstgenannten Bacillus erreichte. Es fehlte dabei die Fluorescenz sowohl, als auch der aromatische Geruch.

Wir sehen also, dass in den mit Nr. I, II und IV bezeichneten Röhren, gleichgiltig mit welcher der beiden Pyocyaneusracen dieselben abgeimpft werden, kein Pyocyanin erzeugt wird, während umgekehrt in den sub Nr. III Culturen, in denen die Phosphorsäure fehlt, bei ganz geringfügiger Vegetation reichlich Pyocyanin gebildet wird. Daraus aber,

[1] Es fiel auf, dass trotzdem alle Culturröhrchen, in einem Zeitraum von neun Monaten, gleichmässig der Verdampfung preisgegeben waren, die Flüssigkeit in denjenigen Röhren sich am stärksten verminderte, in denen das üppigste Bacillenwachsthum zu beobachten war, d. i. also in den mit I, II und IV bezeichneten. Es scheint also, dass diese Culturen durch reichliche Gasebildung stärker an Volumen verloren haben, und wir wissen ja, seit Jakowski's Arbeit (a. a. O. S. 485—487), dass der Bac. pyocyaneus ausser anderen Substanzen auch Schwefelwasserstoff und Methylmercaptan producirt.

[2] Auch die Krystallbildung in den Culturen schien wesentlich von der Vermehrung der Bakterien abzuhängen. Krystalle zeigten sich nämlich nur in den Röhren, in denen lebhaftes Keimen zu beobachten war (in Nr. I, II u. IV), während in den mit III bezeichneten und den steril belassenen Culturröhren, keine Krystalle gebildet wurden.



dass einerseits die Culturen des Bac. pyocyaneus α, welche weder in Bouillon noch in Gelatine oder in Agar Pyocyanin produciren, plötzlich, beim Fehlen des Phosphors, dasselbe bilden, und dass anderseits die Culturen des Bac. pyocyanin β, die in allen den gewöhnlich benützten Nährmitteln Pyocyanin bereiten, in den mit Nr. I, II und IV bezeichneten Culturen dasselbe nicht mehr erzeugen, geht die enge Verwandtschaft der beiden Racen auf's Deutlichste hervor.

In einer zweiten Versuchsreihe, in der ich die Menge des der Nährlösung zugesetzten phosphorsauren Kaliums auf das $^1/_8$ verringerte, erschien die blaue Farbe, wenn auch mit geringerer Intensität, auch bei den mit I, II und IV bezeichneten Culturen des Bac. pyocyaneus β, jedoch nicht bei denen des Bac. pyocyaneus α (vgl. auch Gessard, Thumm, S. 49 u. A.).

Wenn nun Thumm (auf S. 78) behauptet, dass beim Fehlen des Phosphats ein kaum merkliches Wachsthum und in Folge dessen auch keine Fluorescenz stattfindet, so ist dies nach dem eben Erwähnten nicht richtig. Wachsthum und Farbstoffbildung sind nämlich Eigenschaften, welche nicht immer in geradem Verhältnisse zu einander stehen, und oft hemmen die äusseren Bedingungen die Entwickelung der einen Eigenschaft, während sie die der anderen begünstigen.

Noch auf einen Punkt der letztgenannten interessanten und fleissigen Arbeit möchte ich hier aufmerksam machen. Es wird (auf S. 72) behauptet, dass beim Schütteln einer Pyocyaneus-Cultur keine Leukosubstanz zu Pyocyanin oxydirt wird, sondern dass dabei das in der Oberfläche gebildete und in der Ruhe auch dort verbleibende Ammoniak in die Tiefe dringt und die grüne Fluorescenz verursacht. Zum Beweise führt dieser Forscher folgendes Experiment aus. In einem Scheidetrichter wird der Bac. pyocyaneus in Gelatine gezüchtet bis vollständige Verflüssigung eingetreten ist, dann lässt er die untere Hälfte in eine Culturröhre auslaufen und schüttelt beide Theile separat und heftig durch. Die obere Partie fluorescirt alsdann stark moosgrün, während die untere gar nicht fluorescirt. Daraus folgert Thumm, dass die Annahme Ledderhose's von der Bildung des Pyocyanins durch Oxydation eines Leukofarbstoffes nicht richtig sein kann. Ich wiederholte diesen Versuch mit Culturen des Bac. pyocyaneus α und den eigenen und fand, dass Thumm in Bezug auf den Bac. pyocyaneus α, der übrigens auf den gewöhnlichen Nährböden kein Pyocyanin producirt, Recht hat, und dass in der That die Einwirkung des Alkalis auf den gelben Farbstoff die Fluorescenz bewirkt. Was aber den echten Bac. pyocyaneus β der eigenen Culturen anbetrifft, so ist diese Ansicht als absolut unrichtig zu nennen, denn beim Schütteln wurden beide Hälften schön und tief blaugrün.



Zum Beweise, dass das Pyocyanin nicht als solches vorgebildet, sondern wirklich das Produkt der Oxydation einer Leukosubstanz (im Sinne Nägeli's, Ledderhose's u. a. Autoren) ist, führte ich folgenden Versuch aus. Lässt man eine durch Schütteln grün gewordene Cultur des Bac. pyocyaneus β durch einige Zeit ruhig stehen, so wird sie allmählich, von unten beginnend nach oben entfärbt, und nur die Oberfläche behält ihre grünliche Farbe. Das Pyocyanin wird von den sauerstoffgierigen Bakterien desoxydirt und in die farblose Verbindung zurückgeführt. Kochte ich aber oder sterilisirte eine bereits grüngefärbte Cultur bis zur Abtödtung aller Bakterien, so behielt dieselbe die einmal angenommene grüne Farbe unverändert lange fort. Erst als ich dieses Culturröhrchen durch einen starken und dichten Gummischlauch mit einer zweiten sauerstoffabsorbirenden Röhre, in die ich Pyrogallussäure in alkalischer Lösung that, in Verbindung setzte, verschwand die grüne Farbe. Entfernte ich den verbindenden Schlauch und schüttelte das Röhrchen, auch ohne dessen Watteverschluss abzunehmen, ein paar Mal durch, so wurde das Pyocyanin rasch wieder hergestellt.

Auch ein eben geimpftes Bouillonröhrchen setzte ich in Verbindung mit dem sauerstoffabsorbirenden Apparat. Der Bacillus vermehrte sich auch jetzt mit grösster Lebhaftigkeit, und die Flüssigkeit trübte sich, aber ausser der gelben Verfärbung war kein blauer Farbstoff und keine Fluorescenz zu beobachten. Nach sechs Tagen wurde der Schlauch entfernt und die Cultur einige Mal hin und her geschwenkt, worauf fast augenblicklich die grüne Farbe zum Vorschein kam. Dasselbe fand statt, als ich eine gelbliche unter Sauerstoffmangel gewachsene Cultur durch Kochen zuerst sterilisirte und dann erst der Lufteinwirkung aussetzte. Auch diese Cultur wurde augenblicklich grün und blieb fortan so gefärbt.

Aus dem Gesagten geht mithin hervor:

1. Dass trotz gegentheiliger Behauptungen **zwei Racen** des Bac. pyocyaneus existiren, welche nicht nur in biologischer Hinsicht, sondern auch in morphologischer Beziehung (in ihren Agar-Strichculturen) von einander abweichen, deren nahe Verwandtschaft jedoch auch dadurch bewiesen wird, dass, bei der Eliminirung der Phosphorsäure aus den Culturflüssigkeiten, alle Pyocyaneusracen plötzlich Pyocyanin produciren.

2. Dass der Bac. pyocyaneus α keinen blauen Farbstoff, wohl aber eine blaue, rasch grün werdende Fluorescenz auf den gewöhnlich benützten Nährmedien bereitet.

3. Dass der Bac. pyocyaneus β thatsächlich Pyocyanin bildet, und dass dasselbe, trotz der Behauptung Thumm's, nicht nur aus den complicirten Nährböden, sondern auch aus den künstlichen einfachen Nährlösungen isolirt werden kann.



4. Dass das Pyocyanin aus einer Leukosubstanz durch Sauerstoffzufuhr entsteht, und dass dazu gar nicht einmal die Anwesenheit von den lebenden Bacillen nothwendig ist, da die Veränderung auch in einer sterilisirten Cultur vor sich gehen kann.

5. Dass der Bac. pyocyaneus auch unter Sauerstoffabschluss nicht nur gut leben und wachsen, sondern auch die erwähnte Leukosubstanz produciren kann.

6. Dass durch hohe Temperaturen (Sterilisation) weder das Pyocyanin selbst, noch dessen Leukosubstanz zersetzt werden kann, und endlich

7. dass das Pyocyanin, indem es von den Bakterien reducirt wird, eine Sauerstoffquelle für dieselben genannt werden kann.[1] Werden die Mikroorganismen abgetödtet, so findet spontan keine Reduction mehr statt. Eine solche kann dann nur mehr durch sauerstoffabsorbirende Mittel bewirkt werden.

[1] Auf S. 261 wurde erwähnt, dass die grüne Farbe der Culturen mit zunehmendem Alter stärker wird, und endlich, auch in der Ruhe, das ganze Röhrchen, bis tief herunter, einnimmt. Dies ist so zu erklären, dass das Pyocyanin nur so lange verändert wird, als noch eine Vermehrung der dasselbe reducirenden Bacillen stattfindet. Dann wird kein oder nur mehr wenig Sauerstoff verbraucht und das Pyocyanin bleibt unverändert liegen und färbt die ganze Cultur. Erst später, nachdem auch die Bildung des Pyocyanins aufgehört hat und das schon gebildete allmählich zersetzt wurde, nimmt die Cultur eine braune Farbe an.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Experimentelle Beiträge zur Kenntniss der im normalen Serum vorkommenden globuliciden Substanzen.

Von

Dr. **Albert Schütze** und Dr. **Robert Scheller**.

Die Thatsache der baktericiden Wirkung normaler Körpersäfte, wie sie von J. Fodor (1), Nissen (2), Nuttall (3) u. A. im extravasculären Blute gefunden wurde, hat seit ihrer Entdeckung die Aufmerksamkeit der verschiedensten Forscher auf sich gezogen. Insbesondere war dies der Fall, nachdem Buchner (4) und seine Schüler in ihren bekannten Untersuchungen zu dem Schlusse gekommen waren, dass das zellenfreie Blutserum als der Träger dieser baktericiden Wirkung zu betrachten sei. Buchner, welcher diese Stoffe sehr eingehend studirt hat und ihnen eine entscheidende Rolle beim Zustandekommen der angeborenen Immunität zuerkennt, hat sie daher, um schon mit ihrer Bezeichnung ihre Function zum Ausdruck zu bringen, mit dem Namen „Alexine" belegt und ist somit der Begründer der Alexintheorie geworden, welche die Lösung des Immunitätsproblems vom humoral-pathologischen Standpunkte aus anstrebt. Seine Lehre gründet sich im Wesentlichen auf die Thatsache, dass im extravasculären Blutserum verschiedener Thierarten Bakterien der mannigfachsten Art, auch in grossen Mengen, vernichtet werden, und nimmt an, dass die Schutzstoffe nach dem Vorgange von Emmerich und Löw als proteolytische Enzyme, als „Endoenzyme" anzusehen seien, welchen die Aufgabe zufällt, nach Möglichkeit die im Blute vorhandenen Krankheitskeime unschädlich zu machen und zu vernichten. Diese Ansicht Buchner's ist indess nicht ohne Widerspruch geblieben. Vor Allem



waren es die Anhänger der sogen. cellularen Richtung, Metschnikoff (5) und seine Schüler, welche diese Lehre bekämpften. Aber auch Forscher, die an die hauptsächliche Mitbetheiligung der Körpersäfte als Ursache der angeborenen Immunität glaubten, wollten doch die Buchner'schen Experimente als durchaus nicht zwingend für seine Ansicht anerkennen und den Alexinen jedenfalls nicht die Bedeutung zusprechen, „als eines der Hauptprincipien des Immunisirungsvorganges" gewürdigt zu werden.

Namentlich wurde dagegen geltend gemacht, dass es Thiere giebt, welche gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus besonders wenig empfänglich sind, trotzdem in ihrem extravasculären Serum keine hervortretenden baktericiden Eigenschaften gegenüber dem betreffenden Mikroben sich erkennen lassen, und dass umgekehrt Thiere gegenüber einem Infectionserreger sehr empfindlich sein können und trotzdem in ihrem extravasculären Serum sehr starke baktericide Eigenschaften gegenüber jenem aufweisen. So wissen wir, dass das aus der Ader eines Kaninchens gewonnene Serum die Fähigkeit hat, eine grosse Anzahl von Milzbrandbacillen zu Grunde zu richten, während auf der anderen Seite das Kaninchen zu den für Anthrax empfänglichen Thieren gehört. Nach den Untersuchungen von Lubarsch (6b) genügten nämlich schon geringe Mengen, 620 Milzbrandbacillen, einem Kaninchen intravenös injicirt, um den Tod dieses Thieres innerhalb zweier Tage hervorzurufen, wohingegen das extravasculäre Blutserum desselben Kaninchens in 1 ccm 29200 Milzbrandbacillen zu zerstören im Stande war. Andererseits aber wissen wir, namentlich durch die Untersuchungen von Behring und Nissen (7), welche diese Verhältnisse eingehend dargelegt haben, dass beispielsweise der Hund, welcher sich gegenüber der Milzbrandinfection recht widerstandsfähig erweist, in seinem Blute nur eine geringe baktericide Kraft besitzt.

In neuester Zeit ist man nun so weit gegangen, die baktericiden Wirkungen des extravasculären Blutserums überhaupt nicht als einen biologisch fermentativen Vorgang aufzufassen, sondern als einen rein physikalischen, mit der Plasmolyse identischen; d. h. man nimmt an, dass der Untergang der in frisches extravasculäres Serum gebrachten Bakterien darauf beruhe, dass sie aus einer Flüssigkeit von einer bestimmten Isotonie in eine andere, von der ersten verschieden isotonische, gebracht werde. Es waren namentlich Baumgarten (8) und Walz (9) in Tübingen, welche diese Ansicht mit Schärfe und Nachdruck verfochten, und ihnen ist in der allerjüngsten Zeit A. Fischer (10) in Leipzig beigetreten, welcher neue Argumente für die Richtigkeit der Alexintheorie verlangt, durch welche jede osmotische Störung ausgeschlossen ist, und zugleich auch die Zartheit der Bakterienzelle in genügender Weise Berücksichtigung findet. Auf der



anderen Seite suchten nun wieder die Anhänger der Buchner'schen Lehre die biologische Wirksamkeit der Alexine dadurch zu beweisen, dass sie Untersuchungen darüber anstellten, ob während eines Infectionsvorganges beim Eintritt der Bakterien in die Blutbahn ein Aufbrauch der Alexine stattfindet. Bei der Wichtigkeit dieser Frage war es nicht zu verwundern, dass eine grosse Anzahl von Autoren — ausser den bereits erwähnten Namen von Fodor, Nissen, Nuttal u. Buchner (a.a.O.) seien u. a. angeführt Traube und Gscheidlen (11), Watson Cheyne (12), Wyssokowitsch (13) — ihr Bestreben darauf richtete, durch Experimente auf directem Wege, d. h. durch intravenöse Einverleibung von Bakterien (s. o. Lubarsch), die Lehre der bakterientötenden Wirkung des strömenden Blutes dem Verständnisse näher zu rücken. Es sei hier gestattet, in aller Kürze das Wesentlichste aus diesen Untersuchungen hervorzuheben.

Nächst der Arbeit von Flügge (14), welcher im Jahre 1888 als der Erste das Blut eines mit Milzbrand inficirten Kaninchens auf seine baktericiden Eigenschaften in verschiedenen Zeiträumen prüfte und dabei zu dem Resultate kam, dass nach der ersten Stunde eine „sehr geringfügige Abnahme, dagegen nach 25 Stunden ein energisches Wachsthum der Bacillen stattgefunden hatte", sind hier die Versuche von Nissen (2) zu erwähnen, welcher aus seinen Experimenten (Coccus aquatilis, Vibrio cholerae) den Schluss zieht, dass die Injection sehr grosser Mengen von Bakterien eine unverkennbare Abschwächung der baktericiden Wirkung des Blutes zur Folge hat. Von weiterem Interesse für diese Frage sind ferner die Arbeiten von Lubarsch (6a), welcher fand, dass die „baktericide Wirkung des Kaninchenblutes bereits 6 bis 22 Stunden nach der Milzbrandinfection völlig vernichtet ist", und jene von v. Székely und Szana (15), welche die Veränderungen in der baktericiden Fähigkeit nach vorausgegangener Impfung mit verschiedenen Bakterienarten zum Gegenstande ausführlicher Untersuchungen gemacht haben. Ein weiteres Interesse beansprucht die Arbeit von Bastin (16), welcher durch neue an Hunden mit Staphylokokken vorgenommene Experimente den wichtigen Nachweis führen konnte, dass die schon von Nissen beobachtete Verminderung der Baktericidie unmittelbar 5 bis 10 Minuten post injectionem am deutlichsten nachzuweisen ist, dass aber schon nach $^1/_2$ Stunde die Regeneration der baktericiden Kraft beginnt, welche nach 6 Stunden zum grossen Theil wieder hergestellt ist. Hierher gehören ferner die werthvollen Beiträge von Denys und Kaisin (17), welche zugleich eine Bestätigung der Bastin'schen Untersuchungsergebnisse enthalten, und die Arbeiten von Rosatzin sowie von Lubarsch, welcher auf Grund seiner neuesten Experimente sich dahin ausspricht, dass die baktericiden Kräfte des Serums „eine auffallende



Constanz und Gleichmässigkeit bewahren und durch specifische Einflüsse nur in geringem Grade modificirbar sind."

Diese Verschiedenheit in den Angaben der einzelnen Autoren hat nun dazu geführt, dass in der jüngsten Zeit H. Conradi (18) in einer sehr eingehenden Arbeit über „Baktericidie und Milzbrandinfection" von neuem eine Prüfung dieser Fragen vornahm. Wir heben aus den interessanten Versuchen Conradi's hervor, dass nach seinen Beobachtungen sowohl „in dem ersten Stadium der Milzbrandinfection des Kaninchens, in welchem die Erkrankung sich vorzugsweise an der Impfstelle localisirt, als auch in dem zweiten Stadium, in welchem die Milzbrandbacillen die Blutbahn überschwemmen, die baktericide Eigenschaft des extravasculären Blutserums Milzbrandbacillen gegenüber erhalten bleibt." Die anderen Versuchsergebnisse Conradi's, welche dahin lauten, dass bei intravenöser Injection concentrirter Aufschwemmungen von Milzbrand und bei geringer Bakterieneinsaat die bakterienvernichtende Wirkung des extravasculären Blutserums erhalten bleibt, stehen im Gegensatz zu den von Nissen, Bastin, Denys und Kaisin angestellten Beobachtungen. Es ergiebt sich mithin aus diesen abweichenden Angaben, dass alle diese Untersuchungen bisher zu keinem klaren Resultate geführt haben. Während nämlich die einen Forscher eine Abnahme der baktericiden Kräfte des extravasculären Blutes während der Infection fanden, sind andere zu dem Resultate gekommen, dass die baktericiden Fähigkeiten während des Vorhandenseins der Milzbrandbacillen im strömenden Blute keine Abnahme, ja sogar in einigen Fällen eine Steigerung erfahren hatten. (Denys und Kaisin).

Mit dem Fortschreiten unserer Kenntnisse von den feineren Vorgängen bei der Infection sind uns nun diese widersprechenden Resultate verständlich geworden. Wir wissen heute durch die werthvollen Untersuchungen von A. Radzievsky (19), dass während der Infection stets eine Neubildung von baktericiden Stoffen im Organismus stattfindet, und es ist daher ohne Weiteres klar, dass wir in den individuellen Schwankungen, von denen diese Regeneration abhängig ist, eine Erklärung für die Thatsache zu sehen haben, dass wir in dem einen Versuche mehr, in dem anderen weniger Alexine antreffen. Es musste also, um diese Frage endgültig zu lösen, eine andere Versuchsanordnung gewählt werden. Schon aus den ersten Untersuchungen von Buchner wissen wir, dass neben der baktericiden Wirkung des Serums ausserhalb des Organismus auch eine Wirkung auf gewisse Körperzellen, namentlich auf die rothen Blutkörperchen einer anderen Art, zu constatiren ist. Buchner stellte mit Recht diese Wirkung des Blutserums in Analogie mit der „baktericiden" und nannte sie zum Unterschiede von dieser „globulicide Wirkung" des Blutserums. Diese Kenntniss der Analogie zwischen baktericider und globulicider Fähig-

keit des Blutserums wurde nun in den letzten Jahren durch die Arbeiten von Carbone und Belfanti, Bordet (20), Ehrlich und Morgenroth (21), Landsteiner (22), v. Dungern (23) u. A. vertieft und erweitert. Wir haben aus diesen Arbeiten kennen gelernt, dass eigentlich die Auflösungserscheinungen, welche wir mit Hülfe des Serums einer mit dem Blute einer anderen Thierart behandelten Species gegenüber den Blutkörperchen derselben wahrnehmen, sich vollständig analog den Vorgängen verhalten, welche wir bisher an den Bakterien beobachtet haben. Ein Choleraimmunserum oder ein specifisches Hämolysin verhalten sich ganz analog in der Art ihrer Wirksamkeit, in ihrer Zerstörungstemperatur, kurz in allem. Es ist daher erlaubt, ohne Weiteres von den mittels der globuliciden Eigenschaften eines Serums erhaltenen Resultaten einen Rückschluss zu machen auf die gleichen Verhältnisse, wenn es sich um Bakterien handelt. Von dieser Idee ausgehend haben wir nun durch einige experimentelle Beiträge versucht, der Lösung der Frage, ob bezw. innerhalb welcher Zeit die im normalen Serum vorhandenen, ausserhalb des Organismus in die Erscheinung tretenden globuliciden Eigenschaften desselben, welche wir also den bakterieiden Stoffen analog ansehen dürfen, im Organismus bei der Einführung einer anderen Blutart aufgebraucht werden oder nicht, näher zu treten.

Unsere Versuchsanordnung war nun folgende: Wir mussten eine Thierart wählen, deren normales Serum die Fähigkeit hatte, die rothen Blutkörperchen einer anderen Species zu lösen. Aus den oben gemachten Darlegungen geht ja hervor, dass diese globulicide Thätigkeit der baktericiden Wirkung der normalen Sera auf manche Bakterienarten analog ist. Derartige globulicide Wirkungen des normalen Serums beobachtet man nun bei dem Kaninchenserum gegenüber den rothen Blutkörperchen der Ziege. Wir überzeugten uns indess sehr bald durch Vorversuche, dass diese Eigenschaft des normalen Kaninchenserums individuell in den weitesten Grenzen schwanken kann, so dass wir beispielsweise Kaninchen fanden, welche schon in der geringen Dosis von 0·1 ccm Serum : 3·0 ccm einer 5 procentigen Aufschwemmung von defibrinirtem Ziegenblut in physiologischer Kochsalzlösung nach einem einstündigen Aufenthalt im Brütschrank bei 37° C. deutlich hämolytische Eigenschaften zeigten, während selbst Mengen von über 2 ccm Serum anderer Kaninchen gar keine Wirkung erkennen liessen. Aus diesem Grunde war es also schon von vornherein nicht möglich, so vorzugehen, dass wir einfach einem Kaninchen die rothen Blutkörperchen der Ziege injicirten und dann das Serum des so behandelten Thieres auf seine lösenden Eigenschaften gegenüber den Ziegenblutkörperchen prüften. Denn bei der schon erwähnten grossen individuellen Verschiedenheit der globuliciden Wirkung hätten wir eben nicht wissen können, ob nicht dasselbe Kaninchen schon von vornherein die den Vorgang der Hämolyse



bedingenden Stoffe in seinem Serum vermissen liess. In Folge dessen haben wir, um unsere Versuche ganz zwingend zu gestalten, stets zuerst durch Entnahme einer Blutprobe aus der Ohrvene eines Kaninchens genau quantitativ die lösende Kraft seines Serums gegenüber einer bestimmten Menge, meist 3 ccm einer 5procent. Verdünnung frischen defibrinirten Ziegenbluts mit physiologischer Kochsalzlösung, während eines einstündigen Aufenthaltes bei 37° C. in vitro bestimmt. Zeigte sich sodann, dass das Serum der betreffenden Kaninchen unter diesen Versuchsbedingungen eine ausgesprochene Lösungskraft[1] hatte, so injicirten wir nun den Thieren so viel defibrinirtes Ziegenblut, bezw. wie wir gleich sehen werden, die entsprechende Blutmenge von abcentrifugirten und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmten rothen Blutkörperchen, als unserer Berechnung nach zum Aufbrauch der gesammten vorhandenen globuliciden Stoffe ausreichend war. Also, wenn wir beispielsweise ein Kaninchen hatten, welches 2000 gr wog und in einem Verhältniss von 1:3 Ziegenblut löste, so war eine Blutmenge von 9 ccm[2] zur völligen Bindung der für Ziegenblut vorhandenen globuliciden Substanzen erforderlich. Um diese Wirkung ganz sicher zu erreichen, injicirten wir in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle bei weitem grössere Mengen, als der theoretischen Rechnung entsprach. Wir möchten bei dieser Gelegenheit nicht unerwähnt lassen, dass wir anfangs, als wir reines, defibrinirtes Ziegenblut, welches übrigens zu jedem Versuche frisch entzogen wurde, injicirten, viele Verluste an Thieren hatten, indem die gleichzeitig miteingespritzte nicht unbeträchtliche Serummenge sehr giftig auf die rothen Blutkörperchen der Kaninchen einwirkte, dieselben rasch zur Auflösung[3] brachte und in Folge dessen in einer grossen Zahl von Fällen den raschen Tod der Thiere zur Folge hatte. Wir sind daher späterhin, um diesem Missstande zu begegnen, dazu übergegangen, die rothen Blutkörperchen der Ziege abzucentrifugiren, mit physiologischer Kochsalzlösung aufzuschwemmen und das auf die ursprüngliche Menge des defibrinirten Blutes gebrachte Gemisch den Kaninchen intravenös ein-

---

[1] Wir schalteten diejenigen Kaninchen vom Versuche aus, deren Serum erst in Dosen von mehr als 1 ccm 3 ccm 5 procentigen Ziegenblutes löste.

[2] Wenn wir z. B. in der Vorprobe fanden, dass 1 ccm Kaninchenserum 3 ccm 5 procentigen Ziegenbluts löste, so entsprach die letztere Menge 0·15 ccm reinen, defibrinirten Ziegenblutes. Hatte nun das Versuchskaninchen ein Gewicht von 2000 grm, so besass es nach Landois (*Lehrbuch der Physiologie,* 1896) $^1/_{20}$ seines Körpergewichts = 100 grm Blut; nehmen wir hiervon 60 ccm in Wirkung tretendes Serum an, so wären, um das ganze Serum in der Menge von 60 ccm wirken zu lassen, $60 \times 0{\cdot}15 = 9$ ccm Ziegenblut zu injiciren.

[3] In vitro konnten wir eine sehr schnelle Auflösung einer 5 procentigen Ziegenblutmenge durch normales Kaninchenserum, manchmal sogar in einem Verhältniss von 0·1 : 3·0, schon bei Zimmertemperatur beobachten.



zuspritzen. Es zeigte sich nun sofort, dass die Thiere bei Anwendung dieses Verfahrens eine selbst unter stärkerem Drucke ausgeführte Injection grosser Mengen Ziegenblutes (z. B. 20 ccm) stets gut vertrugen. Der Ausgang unserer Versuche war nun in allen Fällen ein sehr beweisender. Denn es hat sich durch die Prüfung im Reagensglase mit unzweifelhafter Sicherheit ergeben, dass bei allen Kaninchen, deren normales Serum vorher eine starke Lösungsfähigkeit gegenüber Ziegenblut gezeigt hatte, durch die Einführung von genügenden Mengen rother Ziegenblutkörperchen in den lebenden Organismus die für das Ziegenblut globuliciden Substanzen des extravasculären Kaninchenserums bereits in der ersten Viertelstunde nach der Injection aufgebracht waren.

Wir lassen hier der Uebersichtlichkeit halber mehrere Protokolle aus unseren zahlreichen Versuchen folgen.

Versuchsreihe A.

Kaninchen, 1500 grm schwer.

Vorprobe: Das aus der Ohrvene gewonnene Blutserum löst in einem Verhältniss von 1:3 ccm einer 5 procent. Ziegenblut-Kochsalzmischung während eines einstündigen Aufenthaltes bei 37° C. die rothen Blutkörperchen der Ziege vollständig.

8. XI. 10 Minuten nach der Einspritzung von 10 ccm defibrinirten Ziegenblutes in die Ohrvene wird das Kaninchen entblutet.

9. XI. Das auf Eis abgeschiedene Serum löst selbst im Verhältniss von 1·5:3·0 ccm Ziegenblut nicht mehr.

Kaninchen, 2000 grm schwer.

Vorprobe: Serum löst 0·5 und 1.0:3·0 ccm Ziegenblut bei 37° C.

9. XI. 14 ccm defibrinirten Ziegenblutes intravenös injicirt, Kaninchen nach 15 Minuten entblutet.

10. XI. Kaninchenserum löst selbst in Dosen von 1·0, 1·5 und 2·0: 3·0 ccm Ziegenblut nicht mehr.

Kaninchen, 1600 grm schwer.

Vorprobe: Serum löst 1·0:3·0 ccm Ziegenblut.

9. XI. Kaninchen wird 10 Minuten nach intravenöser Injection von 12 ccm defibrinirten Ziegenblutes entblutet.

10. XI. Kaninchenserum löst in Dosen von 1·0 und 1·5 : 3·0 ccm Ziegenblut selbst nach zweistündigem Aufenthalt im Brütschrank nicht mehr.

Kaninchen, 1800 grm schwer.

Vorprobe: Serum löst 0·7:3·0 ccm Ziegenblut.

13. XII. Das 3/4 Stunde nach der Injection von 17 ccm einer Mischung von abcentrifugirten rothen Ziegenblutkörperchen mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnene Kaninchenblutserum löst am

14. XII. in einer Dosis von 1·5:3·0 ccm Ziegenblut nicht mehr.



Diese Experimente lehren uns also mit unverkennbarer Deutlichkeit, dass thatsächlich die im extravasculären Serum in die Erscheinung tretenden globuliciden Substanzen durch Einverleibung der betreffenden Blutart in den lebenden Organismus aufgebraucht werden und daher bereits in demselben die gleiche Affinität zu den betreffenden angreifenden Zellen haben. Bei der schon eingangs hervorgehobenen Uebereinstimmung und Analogie der baktericiden und globuliciden Substanzen des extravasculären Serums dürfen wir daher den Rückschluss machen, dass auch die baktericiden Substanzen des normalen Serums, die Alexine, sich ebenso verhalten, ein Resultat, zu welchem übrigens A. Wassermann (24) auf einem anderen, indirekten Wege mit Hülfe des Anticomplementserums kürzlich gelangt ist.

Da wir nun wissen, dass zum Zustandekommen der hämolytischen Wirkung eines Serums zwei Substanzen nöthig sind, der sogen. Immun- oder Zwischenkörper und der Endkörper oder das Complement, welches sich mit dem Alexin deckt, so könnte gegen den Ausfall unserer Untersuchungen noch der Einwand erhoben werden, dass das Verschwinden der globuliciden Wirkung des normalen extravasculären Kaninchenserums nach der Injection von rothen Ziegenblutkörperchen nicht sowohl durch Bindung des Complements (Alexins), als vielmehr durch Bindung des betreffenden Zwischenkörpers erfolgt sei. Um dieses Verhältniss zu klären, haben wir nun folgenden Versuch angestellt: Wenn thatsächlich bei unseren Experimenten nur der betreffende Zwischenkörper, und nicht das betreffende Complement gebunden war, so musste das in Folge der vorgenommenen Ziegenblutinjection unwirksam gewordene Kaninchenserum sein Complement noch enthalten, also die Fähigkeit besitzen, ein inactivirtes Kaninchenserum wieder activiren zu können. Dies ist nun, wie aus unseren mehrfach angestellten Versuchen, von denen wir folgende zwei im Protokoll anführen, unzweifelhaft hervorgeht, thatsächlich nicht der Fall.

Versuchsreihe B.

Kaninchen, 1500 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 0·1 : 3·0 ^{ccm} Ziegenblut.

26. XI. 17 ^{ccm} Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung intravenös injicirt, Kaninchen nach 10 Minuten entblutet. Das Serum löst selbst in Dosen von 1·5 und 2·0 ^{ccm} Ziegenblut nicht. 1 ^{ccm} dieses derart vorbehandelten Kaninchenserums + 1 ^{ccm} normalen Kaninchenserums, welches Ziegenblut gut gelöst hatte und durch einstündiges Erhitzen auf 60° inactivirt worden war, lösen 3 ^{ccm} 5 procentiges Ziegenblut nicht.

Kaninchen, 1600 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 0·7 : 3·0 ^{ccm} Ziegenblut.

3. XII. 10 ^{ccm} Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung intravenös inji-



cirt, Kaninchen nach 10 Minuten entblutet. Serum löst nicht in Dosen von 1·5 und 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut. 2·0 ccm dieses vorbehandelten Kaninchenserums + 2·0 ccm inactivirten Kaninchenserums lösen 3 ccm 5 procentigen Ziegenblutes nicht.

Es ergiebt sich also aus diesen Versuchen der zwingende Beweis, dass thatsächlich das entsprechende Complement bei unseren Experimenten im Thierkörper aufgebraucht worden ist.

Legen wir uns nun die Frage vor, worauf es zurückzuführen ist, dass man in den eingangs citirten Arbeiten, welche insbesondere den Nachweis der Verminderung der Alexine während der Infection anstrebten, kein eindeutiges Resultat erhielt, so liegt dies wohl ohne Zweifel daran, dass man den Organismus nicht auf einmal derartig mit infectiösen Keimen überschwemmen kann, wie dies bei unseren Versuchen mit rothen Blutkörperchen sich leicht ausführen lässt, und dass ferner überhaupt mit Bakterien, namentlich lebenden, ein genaues quantitatives Arbeiten kaum möglich, zum mindesten aber ausserordentlich erschwert ist. Vor allem aber kommt bei diesen Infectionsversuchen hinzu, dass eben in diesen Fällen die Einwanderung der Bakterien sich über einen längeren Zeitraum erstreckt, und daher, wie wir schon aus der oben angeführten Arbeit von Radzievsky (19) ersehen, der Organismus Zeit hat, den Ausfall an bakterieiden Substanzen immer wieder zu ersetzen. Denn die Regeneration dieser Substanzen geht sehr schnell vor sich. Wir haben nun auch diese Frage in den Bereich unserer Experimente gezogen und konnten nachweisen, dass im Durchschnitt bei den von uns zum Versuch verwendeten Kaninchen, deren normale globulicide Kräfte durch die Einverleibung des Ziegenblutes vollständig aufgebraucht worden waren, die Regeneration derselben im Durchschnitt schon innerhalb 2 bis 4 Stunden wieder eingetreten war. Wir mussten also, um unsere Versuche ganz einwandsfrei zu gestalten, wiederum zuerst einem Kaninchen eine Blutprobe aus der Ohrvene entziehen, um das abgeschiedene Serum auf seine Lösungsfähigkeit dem Ziegenblut gegenüber zu prüfen. War diese hämolytische Wirkung festgestellt, so injicirten wir nun, wie oben auseinandergesetzt, die entsprechende Menge Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung und entzogen nach Ablauf von 10 bis 15 Minuten (s. unten) demselben Kaninchen ca. 10 ccm Blut, so viel als nothwendig erschien, um am folgenden Tage das abgesetzte Serum auf seinen Gehalt an globuliciden Eigenschaften untersuchen zu können, und brachten schliesslich zwei oder mehr Stunden nach der Injection durch Eröffnung der Carotiden das Thier zum Verbluten. Um diese Verhältnisse übersichtlicher zu gestalten, sei es gestattet, aus unseren zahlreichen Versuchen Beispiele anzuführen.



Versuchsreihe C.

Kaninchen, 2350 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 0·5:3·0 ^{ccm} 5 procentigen Ziegenblutes nach 1 Stunde bei 37° C.

7. XII. 14 ^{ccm} einer Aufschwemmung von rothen Ziegenblutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung intravenös injicirt. Nach 10 Minuten Blutprobe aus Ohrvene entnommen. Serum (1·0 ^{ccm}) löst 3 ^{ccm} 5 procentigen Ziegenblutes nicht. Nach 2 Stunden Kaninchen entblutet: Serum löst im Verhältniss von 0·5:3·0 ^{ccm} Ziegenblut wie im Vorversuche.

Mithin war vollständige Regeneration innerhalb 2 Stunden erfolgt.

Kaninchen, 1550 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 1·0:3·0 ^{ccm} 5 procentigen Ziegenblutes unter denselben Bedingungen.

14. XII. 13 ^{ccm} eines Gemisches rother Ziegenblutkörperchen (s. oben) intravenös injicirt. Nach 15 Minuten Blut aus Ohrvene entzogen, Serum (1·5 : 3·0 ^{ccm}) löst nicht. Nach 4 Stunden Thier entblutet. Das Serum löst 1·0:3·0 ^{ccm} wie eingangs.

Mithin war vollständige Regeneration innerhalb 4 Stunden erfolgt.

Kaninchen, 1500 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 1·0:3·0 Ziegenblut.

15. XII. 15 ^{ccm} Ziegenblutkörperchen intravenös injicirt. Nach 20 Minuten Blut entzogen: Serum löst auch in grossen Dosen kein Ziegenblut. Nach 3 Stunden Thier entblutet: Serum löst 1·0 : 3·0 ^{ccm} wie im Vorversuch.

Mithin vollständige Regeneration innerhalb 3 Stunden.

Kaninchen, 2500 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 0·5:3·0 ^{ccm} Ziegenblut.

17. XII. 20 ^{ccm} Ziegenblutkörperchen intravenös injicirt. Nach 15 Minuten Blut entzogen: Serum löst nicht. Nach 2 Stunden abermals eine Blutprobe aus der Ohrvene entnommen: Das Serum beginnt in einem Verhältniss von 1·0 : 3·0 ^{ccm} Ziegenblut zu lösen. Nach 3 Stunden Kaninchen entblutet: Serum löst wie eingangs 0·5 : 3·0 ^{ccm} Ziegenblut vollständig.

Also nach 2 Stunden beginnende, innerhalb 3 Stunden vollständige Regeneration.

Kaninchen, 1500 ^{grm} schwer.

Vorversuch: Serum löst 0·5 : 3·0 ^{ccm} Ziegenblut.

18. XII. 14 ^{ccm} Ziegenblutkörperchen intravenös injicirt. Nach $^1/_2$ Stunde aus Ohrvene Blut entzogen: Serum 1·0 und 1·5:3·0 löste nicht. Nach 3 Stunden Thier entblutet: Serum 0·5 : 3·0 löst nicht, 1·0 : 3·0 zeigt schwache, 1·5:3·0 vollständige Lösung.

Mithin nach 3 Stunden beginnende Regeneration.



In Ergänzung unserer Protokolle sei erwähnt, dass in zwei Fällen selbst innerhalb 4 Stunden keine deutliche Regeneration nachgewiesen werden konnte. Es ergiebt sich also aus dieser Versuchsanordnung, dass die Regeneration der aufgebrauchten globuliciden Substanzen individuellen Schwankungen unterworfen ist, so dass beispielsweise bei manchen Kaninchen die nach der Injection von Ziegenblut aufgebrauchten Stoffe bereits nach 2 Stunden wieder nachweisbar waren, während sie bei anderen nach 3 Stunden noch nicht vollständig in die Erscheinung traten.

Ueberblicken wir nun noch einmal die Resultate unserer Untersuchungen, so können wir sie vielleicht am besten in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Die im normalen extravasculären Kaninchenserum für das Ziegenblut vorhandenen globuliciden Substanzen werden bereits in der ersten Viertelstunde nach der intravenösen Injection genügend grosser Mengen von rothen Ziegenblutkörperchen aufgebraucht.

2. Dieses Verschwinden der globuliciden Wirkung des extravasculären Kaninchenserums nach der Einspritzung von Ziegenblut ist auf einen Aufbrauch des entsprechenden Complements im Thierkörper zurückzuführen.

3. Der Wiedereintritt der Regeneration der globuliciden Substanzen erfolgt im Durchschnitt in den ersten 2 bis 4 Stunden nach der Injection.

4. Da, wie oben bereits erwähnt, eine vollständige Analogie zwischen globuliciden und baktericiden Substanzen besteht, so können wir füglich aus unseren Resultaten den Rückschluss auf die analogen Schicksale der baktericiden Substanzen bei der Injection ziehen.

Zum Schluss ist es uns eine angenehme Pflicht, Hrn. Professor A. Wassermann für seine freundliche Anregung und sein gütiges Interesse, welches er dieser Arbeit entgegengebracht hat, unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.



Litteratur-Verzeichniss.

1. J. Fodor, Sitzungsbericht der mathematisch-naturwissenschaftlichen Classe der ungarischen Akademie der Wissenschaften v. 18. Mai 1885. Ref. in *Deutsche med. Wochenschrift*. 1885. Nr. 25. S. 435. — Die Fähigkeit des Blutes, Bakterien zu vernichten. *Ebenda*. 1887. Nr. 34.

2. F. Nissen, Zur Kenntniss der bakterienvernichtenden Eigenschaft des Blutes. *Diese Zeitschrift*. 1889. Bd. VI.

3. Nuttall, Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des thierischen Körpers, *Ebenda*. Bd. IV. S. 353 ff.

4. Buchner, Ueber die nähere Natur der bakterientödtenden Substanz im Blutserum. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1889. Nr. 21. — Ueber die bakterientödtende Wirkung des zellenfreien Blutserums. *Ebenda*. 1889. Nr. 25 und 26. — *Archiv für Hygiene*. 1890. Hft. 1 u. 2.

5. Metschnikoff. Vgl. Virchow's *Archiv*. Bd. XCVI. S. 177 u. Bd. XCVII. S. 502.

6a. Lubarsch, *Untersuchungen über die Ursachen der angeborenen und erworbenen Immunität*. Berlin 1891.

6b. Derselbe, *Zur Lehre von den Geschwülsten und Infectionskrankheiten*. Wiesbaden 1899.

7. Behring u. F. Nissen, Ueber bakterienfeindliche Eigenschaften verschiedener Blutserumarten. *Diese Zeitschrift*. Bd. VIII.

8. Baumgarten, Beitrag zur Lehre von der natürlichen Immunität. *Arbeiten aus dem pathol.-anatom. Institut zu Tübingen*. 1899. Bd. III. — Zur Lehre von den natürlichen Schutzmitteln des Organismus gegenüber Infection. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1900. Nr. 7—9.

9. Walz, Ueber die angebliche baktericide Eigenschaft des Blutserums. *Württ. med. Correspondenzbl*. 1899. — Ueber die sogen. baktericide Eigenschaft des Blutserums und über ihre Beziehungen zu Assimilationsvorgängen und osmotischen Störungen. Tübingen 1899. *Habilitationsschrift*. — Erwiderung auf H. Buchner's Artikel u. s. w. *Münchener med. Wochenschrift*. 1899. Nr. 41.

10. A. Fischer, Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das baktericide Serum. *Diese Zeitschrift*. 1900. Bd. XXXV.

11. Traube-Gscheidlen, *Jahresbericht d. schles. Gesellschaft f. vaterländische Cultur*. 1874.

12. Watson Cheyne, *Transactions of the pathological Society of London*. 1879. Vol. XXX.

13. Wyssokowitsch, Ueber das Schicksal der in's Blut injicirten Mikroorganismen. *Diese Zeitschrift*. Bd. I.



14. Flügge, *Diese Zeitschrift.* 1888. Bd. IV.

15. v. Székely und Szana, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1892. Bd. XII.

16. Bastin, *La Cellule.* 1892. T. VIII.

17. J. Denys et A. Kaisin, *Ebenda.* 1893. T. IX.

18. H. Conradi, *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIV.

19. A. Radzievsky, Beitrag zur Kenntniss des Bacterium coli. *Ebenda.* 1900. Bd. XXXIV.

20. Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1898. T. XII.

21. Ehrlich und Morgenroth, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 1, 22. u. 1900. Nr. 21.

22. Landsteiner, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Nr. 25.

23. v. Dungern, *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 13.

24. A. Wassermann, Ueber die Ursachen der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber gewissen Infectionen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 1.

Ueber Diphtheriebacillen bei Reconvalescenten nach Diphtherie.

Nach einem Vortrage, gehalten beim dritten nordischen Congresse für innere Medicin zu Kopenhagen am 26. Juli 1900.

Von

Dr. med. **Holger Prip,**
ehem. Assistenzarzt am Blegdams-Spital zu Kopenhagen.

Die folgende Mittheilung beschäftigt sich mit einer Frage von grosser praktischer Bedeutung, nämlich mit der Frage der Diphtheriebacillen bei Reconvalescenten nach Diphtherie. Die Hauptmomente, die diese Frage enthält, sind folgende:

Wie lange können die Diphtheriebacillen nach dem Aufhören der Krankheit in den Fauces verbleiben?

Wie lange behalten sie ihre Virulenz, und wie gross ist die Ansteckungsgefahr?

Wann, dass heisst, nach wie vielen Aussaaten (Culturen) mit negativem Resultat, darf man den einzelnen Diphtheriereconvalescenten als befreit von Bacillen betrachten? und endlich:

Kann man durch die Behandlung die Bacillen vertreiben?

Die Klarlegung dieser Verhältnisse ist von grösster Wichtigkeit, denn die Frage der Isolirung solcher bacillentragenden Reconvalescenten steht noch immer auf der Tagesordnung.

Die Ansteckungsgefahr wird vielseitig betont, und in allen Ländern erheben sich Stimmen, die verlangen, man soll das betreffende Individuum im Spital behalten oder zu Hause interniren, bis es „von den Bacillen befreit" ist.

Andererseits wird behauptet, dass man aus rein praktischen Gründen von so strengen Verhaltungsmaassregeln absehen muss, so lange man nicht

die Garantie hat, dass ein negatives Resultat der Cultur auf Serum wirklich auch bedeutet, dass der Betreffende nicht mehr anstecken kann. Ausserdem, heisst es, muss man erst wissen, inwiefern diese Bacillen ihre Virulenz beim Menschen beibehalten, nachdem sie sich längere Zeit hindurch auf einer Schleimhaut aufgehalten haben, die kürzere oder längere Zeit vorher unter Einwirkung des Diphtheriegiftes war, sonst aber gesund ist; und zuguterletzt wird noch hervorgehoben, wie hoffnungslos es ist, einen Mikroben bei einem bestimmten Individuum zu respectiren, den man möglicherweise bei einem oder mehreren Mitgliedern der Familie vorfinden kann, von denen er fern gehalten werden sollte. Und zweifelsohne wird man sich oft in eine praktisch gesehene, vollständig unberechenbare Wildniss hineinarbeiten, wenn man seine Untersuchungen rationell auf die Umgebung erstrecken und alle Consequenzen der Isolirung u. s. w. ziehen will, denn man hat keinen festen Boden unter den Füssen. Man weiss nichts von der Gefahr der gefundenen Bacillen für den Menschen, nicht einmal, wenn die Virulenz für Meerschweinchen positiv ist, man weiss nicht, wie lange sie im Schlund verbleiben, und man kann sie durch die Behandlung nicht vertreiben, und verschwinden sie endlich, so weiss man nicht, wie viele Untersuchungen mit negativem Resultat erst gemacht werden müssen, damit man das Individuum als von den Bacillen befreit erklären kann. Es giebt demnach Fragen genug, die auf eine Beantwortung warten. In Bezug auf einzelne Punkte kann meine Mittheilung vielleicht zur Bereicherung des Wissens beitragen, leider ist es aber jedoch wesentlich in einer, praktisch betrachtet, nur wenig positiven Richtung.

Mein Material rührt hauptsächlich von den Untersuchungen des jetzigen Prosectors, Hrn. Dr. med. Fiebiger, und meinen eigenen her, die wir, während wir gleichzeitig Assistenzärzte am Epidemiespital waren, im Laufe von zwei Jahren dort machten.

Ich kann meine Resultate in zwei Gruppen eintheilen: 1. Untersuchungen, die bei Reconvalescenten im Spital gemacht wurden, und 2. solche, die von Untersuchungen nach der Entlassung herrühren.

Es ist selbstverständlich, dass man bei beiden Untersuchungsreihen versucht hat zu constatiren, wie lange die Diphtheriebacillen nach dem Aufhören der Krankheit im Schlunde noch angetroffen werden können. Die Resultate sind aber in Betreff der Spitalsuntersuchungen unerlässlich, weil die grössere oder geringere Möglichkeit einer Reinfection ja nicht ganz ausgeschlossen werden kann.



Diese Möglichkeit scheint bei den nach Hause geschickten Reconvalescenten eine bedeutend geringere zu sein; das Material ist aber bei diesen bedeutend weniger werthvoll, weil ein grosser Theil derselben wegblieb, bevor die Untersuchungen vollendet waren und während das Resultat der bakteriologischen Proben in vielen Fällen noch ein positives war.

Uebrigens habe ich bei den Fällen, die im Spital untersucht wurden, hauptsächlich auf das Resultat der Behandlung Rücksicht genommen und auf die Bedeutung der acuten intercurrenten Infectionskrankheiten.

Bei den Untersuchungen der entlassenen Reconvalescenten waren es aber besonders die Fragen: wann der Patient von den Bacillen befreit war, die Virulenz und die Ansteckungsfrage, die mich interessirten.

Bevor ich weiter gehe, will ich hier nur noch bemerken, dass unter dem Diphtheriebacillus selbstverständlich nur die typischen langen Formen gemeint sind und nicht die „bacilles courts". Alle Culturen sind mit Baumwollpinseln gemacht. Die Anzahl der Untersuchungen ist oft sehr bedeutend gewesen, 20—30—40—50 Culturen von einem und demselben Individuum kommen nicht selten vor.

I. Das Spitalmaterial.

Bestand: 654 Patienten.

Von diesen hatten übrigens nur 345 Diphtheriebacillen, währenddem Belege in den Fauces waren; später keine. Alle diese Fälle werden daher ausgeschlossen. Ein einzelnes Verhältniss verdient, bemerkt zu werden.

Bei 60 dieser 345 Patienten machte man, währenddem die Belege noch vorhanden waren, zu wiederholten Malen Aussaaten (Culturen).

Es zeigte sich nun, dass bei 15, also bei $^1/_4$ der Fälle, die Diphtheriebacillen früher als die Membranen verschwanden, und zwar 5 bis 11 Tage früher als der locale Krankheitsprocess verschwand. Bei 1 bis 2 späteren Untersuchungen mit einem Zwischenraum von 4 bis 9 Tagen erzielte man in allen 15 Fällen wieder ein negatives Resultat.

Dies bestätigt die Nothwendigkeit, die diagnostischen Culturen zu einem frühen Zeitpunkt des Verlaufs der Krankheit anzulegen.[1]

[1] Möglicher Weise handelt es sich in mehreren dieser Fälle um nicht-diphtherische Anginaformen, welche die präexistirenden Diphtheriebacillen allmählich vom Schlunde vertreiben.



Bei den 309 Reconvalescenten, wo man den Diphtheriebacillus auch noch nach dem Abstossen der Membran nachweisen konnte, zeigte es sich häufig, und zwar so häufig, dass man nicht immer an eine Reinfection glauben konnte, dass die mit Zwischenräumen von 2 bis 5 Tagen angelegten Culturen bald ein negatives, bald ein positives Resultat ergaben. Bei 107 — über $^1/_3$ der Fälle — waren in den verschiedenen Stadien der Reconvalescenz vorübergehende Perioden eingetreten, wo die Diphtheriebacillen plötzlich verschwanden (1 bis 4 Culturen negativ) und dann wieder auftauchten.

Dass es sich in diesen Fällen kaum um eine Reinfection gehandelt hat, schliesse ich daraus, dass ähnliche Perioden mit negativem Resultat in einem entsprechenden Verhältnisse auch bei den Entlassenen nachgewiesen werden konnten.

Die Entlassung wurde in der Regel nach 2 Culturen mit negativem Resultat, 2 Tage nacheinander vorgenommen, erlaubt.

Mit dem oben angeführten in mente muss man also als sehr wahrscheinlich annehmen, dass viele der Reconvalescenten das Spital verlassen haben, während noch Diphtheriebacillen bei ihnen zu finden waren.

Wenn ich daher anführe, wie lange nach dem Aufhören der Krankheit Bacillen bei Reconvalescenten im Spital gefunden worden sind, so ist es einleuchtend, dass die Zahlen nur dem Nachweis gelten und also nur der Ausdruck der niedrigsten, minimalen Persistenzzeit sind.

Bei	118	der	309	fand	man	D.-B.	1— 10	Tage	n.	d.	Abstossen	d.	Belages
„	93	„	309	„	„	„	10— 20	„	„	„	„	„	„
„	51	„	309	„	„	„	20— 30	„	„	„	„	„	„
„	41	„	309	„	„	„	30— 60	„	„	„	„	„	„
„	4	„	309	„	„	„	60— 90	„	„	„	„	„	„
„	2	„	309	„	„	„	90—120	„	„	„	„	„	„

Wenn wir nun die Behandlung betrachten, so hat der Versuch, die Bacillen zu vertreiben, wie es auch ganz natürlich ist, hauptsächlich Hülfe in der grossen Gruppe der desinficirenden Mittel gesucht. Eine Menge Stoffe sind aufgelöst, zum Einpinseln und Gurgeln angewendet worden, einzelne andere sind zum innern Gebrauch, oder auf andere Art verordnet worden.

Da keines dieser Mittel sich in einem nachweisbaren Grad als effectiv erwiesen hat und der Nutzen derselben nur ein problematischer zu sein scheint, so will ich nur kurz anführen, was versucht worden ist.



Beim Einpinseln: Eine Lapislösung in verschiedener Stärke oder Lapis als Substanz, Kreolin in verschiedener Verdünnung, starke Carbolsäurelösungen, Toluol-Mentholösungen. Lösungen von Milchsäure und Chromsäure. Gentianavioletlösungen. Lösungen von sozojodolsaurem Natron.

Zum Gurgeln: Lösungen von Borsäure, Citronensäure, Salzsäure, Carbolsäure, Sublimat, Jod in Jodkalium, Kali chloricum, Pepsin und Salzsäure, Thymol. — Verdünnungen von Chlorwasser, Bromwasser, Schwefeldioxyd, Alaunlösungen, Chininlösungen, Lösungen von Bicarbon. natr., Aqua menthae pip., Myrrhatinctur verdünnt.

Zum Einnehmen: Arsenik, Jodkalium, Terpentin, eine schwache Lösung von Cyanet. hydrargyric.

Zum Kauen ist versucht worden: Kampher, Cayennebonbons, Citronbonbons, und bei erwachsenen männlichen Reconvalescenten hat man einzelne Male Cigarren und Kautabak versucht.

Zuletzt muss ich auch noch hervorheben, dass auch die während des Verlaufs der Krankheit angewendete Behandlung mit Anti-Diphtherieserum nicht die geringste Bedeutung dem fortgesetzten Vegetiren der Diphtheriebacillen in den Fauces gegenüber hatte.

Im Zusammenhang mit der Besprechung der Behandlung will ich noch die intercurrenten acuten Infectionskrankheiten während der Reconvalescenz anführen, weil sie, und zwar ziemlich häufig, auf die Bacillen einwirken und dadurch jenes Resultat erzielen, dem man bei der Behandlung zustrebte. Dass Angina im Allgemeinen — und auch die scarlatinöse Angina — als eine neue und fremdartige Infection im Antagonismus zu den Diphtheriebacillen steht und diese vertreiben kann, ist eine altbekannte Sache. Bei den 309 Reconvalescenten mit Diphtheriebacillen trat 15 Mal Angina auf.

Die 14 Male verschwanden die Diphtheriebacillen, d. h. sie konnten bei 2 bis 3 nachfolgenden Culturen, die bezw. 7 Tage bis 2 Monate nach dem Entstehen der Angina gemacht wurden, nicht nachgewiesen werden.

Bei 3 Fällen ergaben die Culturen ein negatives Resultat 1 bis 2 Mal 24 Stunden, bevor sich die Angina klinisch manifestirte. Bei dem einen Fall, wo die Diphtheriebacillen weiter verblieben, war die Angina afebril und beinahe ganz ohne subjective Beschwerden mit nur ganz unbedeutenden Ablagerungen auf den Mandeln.

Bei einem der Fälle zeigten sich die Diphtheriebacillen wieder bei einer einzelnen Cultur, verschwanden aber dann wieder.

Wenn die Untersuchungen zahlreicher gewesen und durch längere Zeit hindurch fortgesetzt worden wären, hätte man vielleicht bei mehreren

Fällen die Bacillen nach kürzerer oder längerer Zeit wieder zurückkehren sehen, sowie es der Fall bei 2 der 5 Scarlatinainfectionen war, die unter den Reconvalescenten auftraten.

Alle diese Scarlatinafälle waren leicht verlaufende Fälle.

Zwei Mal verschwanden die Diphtheriebacillen wie es scheint definitiv. In dem einen Falle ergaben die Culturen bei 27 Untersuchungen ein negatives Resultat und in dem andern bei 11 Untersuchungen während $2^1/_2$ Monaten.

Ein Mal wurde nur eine einzelne Cultur gemacht, dieser Fall sagt also nichts. Zwei Mal kehrten die Bacillen zurück, nachdem sie bezw. 14 Tage und 3 Wochen hindurch verschwunden gewesen waren und zwar gleich nach der Infection; sie verblieben in den Fauces eine kürzere Zeit, um dann vielleicht definitiv ganz zu verschwinden: das eine Mal negatives Resultat durch 3 Wochen (4 Untersuchungen), das andere Mal negatives Resultat 1 Monat hindurch (14 Untersuchungen). Freilich kann man bei diesen 2 Fällen die Möglichkeit einer Reinfection nicht ganz ausschliessen.

Was aber das allergrösste Interesse bei diesen Scarlatinainfectionen bietet, ist, dass die Bacillen bei 2 Fällen von Croup, wo das Infectionsatrium nicht die Fauces waren, sondern die Tracheotomiewunde, die inficirt und mit Belegen bedekct wurde, doch in die Flucht getrieben wurden.

Bei diesen beiden Patienten war, als sich der Scharlach entwickelte, absolut nichts Abnormes in den Fauces nachzuweisen.

Es kann vielleicht hervorgehoben werden, dass bei dem einen der Fälle die Diphtheriebacillen 5 Tage, nachdem das Scarlatinaxanthem ausgebrochen war, noch in den Fauces zu finden waren, und erst dann verschwanden. Derselbe Patient ist auch einer derjenigen, bei dem die Bacillen für eine kurze Zeit wieder zurückkehrten. Bei dem zweiten Crouppatienten verschwanden die Diphtheriebacillen gleich, und scheinbar für immer (negatives Resultat bei 11 Untersuchungen in $2^1/_2$ Monaten).

Bevor ich den Scharlach verlasse, will ich nur noch bemerken, dass ein Diphtheriereconvalescent, der mit zweifelhaften Diphtheriebacillen entlassen worden war, 2 Monate später mit Scharlach wieder ins Spital kam. In den Culturen, die gleich nach der Ankunft gemacht wurden, fand man Diphtheriebacillen, später konnten sie aber nicht nachgewiesen werden.

Wenn der Scharlach seinem extrapharyngealen Infectionsatrium zum Trotz bei den zwei Croupfällen doch auf die Bacillen im Schlunde einwirkte, so scheint dies von der Infection des ganzen Organismus herzurühren, so dass man wahrscheinlich der Localisation der neuen Infection auf den Schlund nur eine geringere Bedeutung zuschreiben darf. Es



sind mit anderen Worten die Toxine, auf die es ankommt, und nicht der locale Process.

Dies erklärt den Autogonismus den Diphtheriebacillen gegenüber, den ich, wie ich glaube, auch bei anderen Infectionskrankheiten gefunden habe, wo die Fauces gar nicht angegriffen sind.

Erysipelas faciei trat 3 Mal auf, Varicellen 2 Mal.

Ausserdem trat 1 Mal ein acuter katarrhalischer Zustand mit Schnupfen und Husten auf.

Bei allen diesen Fällen, mit Ausnahme des einen der Erysipelasfälle, scheint dasselbe feindliche Verhältniss zwischen den Diphtheriebacillen und der neuen Infection zu bestehen, wie bei den Anginafällen.

Es sind jedoch die Untersuchungen zu wenig zahlreich und die Intervalle zwischen den Culturen zu gross, dass ich mich mit Gewissheit darüber aussprechen kann.

Bevor ich diesen Abschnitt abschliesse, will ich noch ganz kurz bemerken, dass es einzelne Male gelungen ist, durch sehr starke Mittel zum Einpinseln (Toluolmenthol-Chloreisen und eine 10 procent. Carbolsäurelösung) künstlich eine Angina mit Röthe und Schwellung der Fauces sowie Belege auf den Mandeln hervorzurufen. Auch diese Anginen konnten die Diphtheriebacillen verjagen, und zwar wenigstens eine Zeit lang.

Hierauf wollen wir zum zweiten Abschnitt übergehen.

II. Untersuchungen der entlassenen Reconvalescenten.

Diese kamen in wöchentlichen Zwischenräumen in das Laboratorium des Spitals.

Man machte Culturen aus den Fauces, oft auch aus der Nase. Mitunter kamen die Reconvalescenten in Begleitung der Eltern oder Geschwister, die immer gefragt wurden, ob zu Hause Niemand angesteckt worden war.

Man hatte zuerst gemeint, die Reconvalescenten erst freizugeben, wenn die Culturen 4 Wochen hindurch ein negatives Resultat ergeben hatten. Die bei weitem überwiegende Mehrzahl der Reconvalescenten blieb aber früher oder später weg, und zwar in der Regel, wenn das Resultat längere Zeit hindurch ein positives war, oder auch wenn es nur ein paar Mal hindurch negativ war.

Diese Untersuchungsreihe umfasst 100 Individuen.

Bei 60 wies man Diphtheriebacillen nach der Entlassung nach. Von den 60 blieben aber 48 weg, bevor die Untersuchung nach dem be-



sprochenen Plan abgeschlossen war. Als erstes Resultat dieser Untersuchungen muss genannt werden: dass der Grad der Krankheit der Diphtherie gar keinen Einfluss auf die Neigung der Diphtheriebacillen zum fortgesetzten Verbleiben im Schlund hat. Man findet sogar vielleicht am häufigsten bei besonders leichten Fällen die längste Persistenz.

Demnächst zeigte es sich, und meiner Ansicht nach ist dies das bedeutungsvollste Resultat der Untersuchungen, dass unter den 60, bei denen man nach der Entlassung Diphtheriebacillen nachwies, 18 (also ca. $^1/_3$) waren, wo die Bacillen 1 bis 2 bis 3 Wochen weg sein konnten, um sich demnächst wieder in den Culturen zu zeigen, dann aber wieder zu verschwinden.

Ausserdem zeigte es sich, dass die Diphtheriebacillen mitunter (bei 5 von 32 Fällen) plötzlich in den Culturen aus der Nase auftraten, 1 bis 4 Wochen dort verblieben, um dann wieder zu verschwinden, ohne dass während der Dauer der Krankheit Nasendiphtherie oder Schnupfen aufgetreten war.

Bei einem Falle, wo auch eine Otitis media war, konnten virulente Bacillen ununterbrochen auch noch 73 Tage[1] nach dem Abstossen der Schlundbelege nachgewiesen werden, währenddem sie mehr als 2 Monate vorher aus dem Schlund und dem Ohrenausfluss auf der entgegengesetzten Seite verschwunden waren (negatives Resultat bei beziehungsweise 10 und 8 Untersuchungen).

Aus dem plötzlichen Verschwinden der Bacillen und ihrem ebenso plötzlichen Zurückkehren — nachdem sie Wochen hindurch von der Nase wie von dem Schlunde weg gewesen sind — ist leicht zu ersehen, wie schwierig es ist, mit Sicherheit sich darüber auszusprechen, wann sie definitiv verschwunden sind, umsomehr, da nur ein begrenzter Theil der betreffenden Schleimhäute einer Untersuchung zugänglich ist.

Leider blieben alle die interessantesten Reconvalescenten weg, diejenigen, die viele Monate hindurch Diphtheriebacillen behausten.

Auch hier liefern uns daher die Untersuchungen über die Frist, innerhalb deren nach der Krankheit noch Diphtheriebacillen im Schlunde gefunden werden, nur Minimalwerthe.

[1] Der Patient blieb weg, währenddem das Resultat noch ein positives war. Sie war Mutter und hatte mehrere kleine Kinder zu Hause. Niemand wurde angesteckt.



Von den 60 konnten Diphtheriebacillen nachgewiesen werden:

bei	13	weniger als	1	Monat	nach	d.	Abst.	der	Bel.	(alle	blieben	zu	früh	weg)
„	20	mehr „	1	„	„	„	„	„	„	(12	„	„	„	„)
„	11	„ „	2	„	„	„	„	„	„	(10	„	„	„	„)
„	6	„ „	3	„	„	„	„	„	„	(3	„	„	„	„)
„	5	„ „	4	„	„	„	„	„	„	(alle	„	„	„	„)
„	2	„ „	5	„	„	„	„	„	„	(„	„	„	„	„)
„	1	„ „	8	„	„	„	„	„	„	(„	„	„	„	„)
„	1	„ „	11	„	„	„	„	„	„	(„	„	„	„	„)
„	1	„ „	22	„	„	„	„	„	„	(„	„	„	„	„)

Wenn wir nun die Virulenz und die Ansteckungsverhältnisse betrachten wollen, kann ich mit der Mittheilung beginnen, dass von 8 der 60 bacillentragenden Reconvalescenten Reinculturen der Diphtheriebacillen gemacht wurden.

Die Virulenz der Bacillen wurde bei verschiedenen Stadien der Reconvalescenz geprüft und zwar im Ganzen 18 Mal.

Alle waren bei der ersten Reincultur ganz virulent, d. h. alle die geimpften Versuchsmeerschweinchen starben 20 bis 60 Stunden nach der Inoculation mit typischen Symptomen.

Die Virulenzproben mit positivem Resultat fanden mit Diphtheriebacillen, die aus den Fauces 13—48—52—84—142—154—165—184—196—335 Tage nach dem Abstossen der Belege reingezüchtet waren, statt. 4 Bacillen wurden zu wiederholten Malen geprüft.

2 verblieben durchaus virulent bezw. 12 und 139 Tage, nachdem die erste Reincultur gemacht worden war. 2 verloren später ihre Virulenz; von diesen ergab:

die eine eine positive Virulenzprobe 142 Tage nach dem Abst. der Bel.
eine negative 256 Tage nach dem Abstossen der Belege,

die zweite eine positive Virulenzprobe 13 Tage nach dem Abst. der Bel.
eine negative 293 Tage nach dem Abstossen der Belege,

(3 Meerschweinchen wurden mit Culturen von zwei verschiedenen Colonieen geimpft),

derselbe Bacillus gab eine feste Infiltration bei Meerschweinchen 311 Tage nach dem Abstossen der Belege,

derselbe Bacillus gab eine schwache Infiltration bei Meerschweinchen 382 Tage nach dem Abstossen der Belege,

(5 Meerschweinchen wurden von verschiedenen Colonieen geimpft),

derselbe Bacillus gab ein negatives Resultat bei der Virulenzprobe 530 Tage nach dem Abstossen der Belege.



Der letzte Bacillus war leicht erkennbar, eigenthümlich gross und mit Gürteln versehen. Er wurde noch ausserdem 2 Jahre darauf bei demselben Individuum nachgewiesen — bei einem Kindermädchen, das jedoch in der Zwischenzeit nicht untersucht worden war.

Sie kam — etwa 4 Jahre nach ihrem ersten Aufenthalt im Spital — wieder wegen eines Halsleidens hin. Bei der Cultur, die gleich nach der Ankunft gemacht wurde, fand man den von ihrem früheren Spitalsaufenthalt gut gekannten Bacillus, den man, als sie zur Unzeit von der Untersuchung ausblieb, zum letzten Mal gesehen hatte. Ausser den Diphtheriebacillen, die in der Minderzahl waren, fand man zahlreiche Kokken. Bei vier nachfolgenden Culturen konnten die Bacillen nicht nachgewiesen werden.

Wahrscheinlich hat es sich daher um eine Angina gehandelt, die vielleicht nur für eine Zeit lang die hartnäckigen Bacillen verjagt hat.

Man machte eine Reincultur der Diphtheriebacillen und prüfte sie und sie waren auch diesmal vollständig avirulent. Ich habe schon besprochen, dass die betreffende Reconvalescentin Kindermädchen war; ich kann noch hinzufügen, dass die Kinder, bei denen sie war, keine Diphtherie bekamen. Dies bringt uns auf die Frage der Ansteckungsgefahr.

Es zeigt sich da zuerst, dass 1 Mal bei den 8 Reconvalescenten, von denen die Virulenz der Bacillen geprüft wurde, wahrscheinlich eine Ansteckung vorliegt.

Es handelt sich hier um ein 8jähriges Mädchen, das eine leichte Diphtherie hatte. Die Eltern verlangten, dass sie 2 Monate, nachdem die Krankheit vorbei war, entlassen werden sollte. Die Eltern wussten, dass sie noch Diphtheriebacillen hatte, sie wollten aber nicht länger warten. Sie wird entlassen und kommt nach Hause in eine ganz neue Wohnung. Die Eltern sind mittlerweile in ein ganz neu erbautes Haus gezogen, wo ausser dieser Familie, die im Parterre wohnt, nur noch eine Familie im 5. Stock ist. Bei beiden Familien sind Kinder.

Den ersten Sonntag, den die Reconvalescentin zu Hause verbringt, ist sie und ihre Schwester auf Besuch im 5. Stock. Ein paar Tage später bekommt ein Knabe der Familie vom 5. Stock Halsschmerzen, und die Belege in den Fauces werden von dem Familienarzte als „diphtherieähnliche“ geschildert. Erst 10 Tage nachdem die Belege abgestossen wurden, hatte ich Gelegenheit, eine Cultur anzulegen; das Resultat war: keine Diphtheriebacillen.

3 Tage, nachdem der Knabe krank wurde, bekommt die eigene Schwester der Reconvalescentin Diphtherie: ein leichter Fall — sie kommt in's Spital, wo die Diphtheriebacillen nachgewiesen werden können. Beiläufig 14 Tage später bekommt die Schwester des Knaben vom 5. Stock

Belege in den Fauces, bei einer Cultur von diesen constatire ich Diphtheriebacillen.

Man macht nun Culturen von der vermutheten Ansteckungsträgerin 84 Tage nach dem Abstossen der Belege. Das Resultat: eine Masse von virulenten Diphtheriebacillen.

Der Knabe im 5. Stock hat wahrscheinlich auch Diphtherie gehabt, wenn auch bei der einzelnen Cultur, die 10 Tage nach dem Abstossen der Belege gemacht wurde, keine Diphtheriebacillen nachgewiesen werden konnten. Er geht in die Schule, von wo er ja auch die Ansteckung mit nach Hause gebracht haben kann.

Es kommt mir aber als am wahrscheinlichsten vor, dass diese kleine Epidemie von der aus dem Epidemiespital entlassenen kleinen Reconvalescentin herrührt; wobei noch erwähnt sein mag, dass sie und die anderen Kinder sich an jenem Sonntag damit unterhielten, wechselweise am Hahne der Wasserleitung in der Küche zu saugen.

Wenn wir von den 8 Reconvalescenten absehen wollen, bei denen die Virulenz der Diphtheriebacillen geprüft wurde, haben wir noch ausserdem bei 52 nach der Entlassung Bacillen nachgewiesen. Unter den 52 treffen wir 3, bei denen es mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden kann, dass die betreffenden zu Hause Andere angesteckt haben.

In allen diesen 3 Fällen sind es Geschwister, die krank werden, alle 3 Mal bricht die Krankheit 5 bis 6 Tage nach der Heimkehr des Reconvalescenten hervor. Bei allen können Diphtheriebacillen nachgewiesen werden, sowohl bei dem Ansteckenden, als bei den Angesteckten.

Bei drei anderen Fällen ist die Ansteckung etwas fraglicher. In dem einen Falle bekommt die Schwester „Belege im Hals" zu Hause, währenddem der Bruder noch mit Diphtheriebacillen herumgeht, die Schwester ist aber nicht bakteriologisch untersucht worden.

In den anderen zwei Fällen bekommen zwei Geschwister Belege in den Fauces, kommen in's Spital, wo Diphtheriebacillen nachgewiesen werden. Diejenigen, die angesteckt haben sollen, hatten wahrscheinlich Bacillen, diese sind aber zu der Zeit, wo die Ansteckung stattgefunden hat, nicht nachgewiesen worden, wohl bei den unmittelbar vorhergegangenen Culturen, aber nicht bei den unmittelbar darauf folgenden. Die Nase ist nur in dem einen der Fälle untersucht worden.

Es verdient hinzugefügt zu werden, dass die zwei der letztgenannten 3 Geschwister auch 5 bis 6 Tage nach der Entlassung der Brüder aus dem Spital krank geworden zu sein scheinen.

Man darf gewiss in Bezug auf Ansteckungswahrscheinlichkeit nur mit Familienmitgliedern rechnen, solchen, die im täglichen Leben in dem-

selben Zimmer wohnen; allen Anderen gegenüber werden die Fehlerquellen zu unberechenbar.

Man muss jedenfalls vorsichtig sein, in dem nachfolgenden Falle an eine Ansteckung zu denken.

Ein Reconvalescent, der fortwährend noch Diphtheriebacillen hat, besucht jeden Sonnabend und Sonntag eine 6jährige Nichte. 3 Monate nach der Entlassung kommt die Nichte mit Diphtherie in's Spital. Man kann sowohl bei ihr, als beim Reconvalescenten Diphtheriebacillen nachweisen.

Man kann sich möglicher Weise ausser der Ansteckung von Diphtherie auch noch eine solche von Diphtheriebacillen denken, ohne dass eine eigentliche Krankheit entsteht. Ich habe zwei Geschwister eines entlassenen Reconvalescenten 8 Tage, nachdem dieser das Spital verlassen hatte, untersucht. Die Fauces waren bei beiden normal, aber beide hatten Bacillen. Vielleicht haben sie dieselben von Jenem bekommen, aber es ist auch möglich, dass er ihnen sowohl seine Diphtherie, als auch die persistirenden Bacillen verdankt.

Wir haben nun gesehen, dass man höchstens mit 7 constatirten Fällen von Ansteckung rechnen darf, die von 60 Reconvalescenten, die nach der Entlassung Diphtheriebacillen hatten, verursacht wurden. Aber wie steht es nun mit den 40, bei denen die Diphtheriebacillen nicht nachgewiesen wurden, nachdem sie das Spital verlassen hatten?

Diese sind mit bezw. 2 bis 7 Culturen in 14 Tagen bis 4 Monaten untersucht worden.

Wir treffen unter diesen 40 zwei Mal Reconvalescenten, deren Geschwister später mit bakteriologisch constatirter Diphtherie in's Spital kommen. Der eine kommt 2 Tage nach der Entlassung des Bruders, der zweite erst 2 Monate, nachdem der Bruder wieder nach Hause gekommen ist. Die zwei letzten Spitalsculturen ergaben in Betreff der beiden Entlassenen ein negatives Resultat, und spätere Culturen (bei dem einen auch solche aus der Nase) zeigten in 14 Tagen bezw. 2 Monaten durchwegs keine Bacillen.

Wir könnten, wenn uns die bakteriologische Untersuchung im Ganzen fehlen würde, bei diesen zwei Fällen mit demselben Recht, wie bei den früheren sieben an eine Ansteckung glauben, und die Möglichkeit, dass diese scheinbar „bacillenlosen“ Reconvalescenten vielleicht doch noch Bacillen tragen können, kann ja auch nicht ganz abgewiesen werden. Es ist ja immerhin auch möglich, dass die Ansteckung von anderer Seite herrührt, vielleicht von bacillentragenden Mitgliedern der Familie.

Wir haben früher gesehen, wie unmöglich es ist zu entscheiden, ob ein Reconvalescent „bacillenfrei“ ist.



Man kann ja nicht wissen, ob die Bacillen nicht an allen Orten eher sind, als dort, wo sie der Baumwollpinsel sucht. Sie können kommen und gehen, ohne dass wir den Grund dazu verstehen.[1]

Unsere Resultate haben uns gelehrt, dass jedenfalls Monate lange sorgfältige Untersuchungen, und zwar aller mit dem Schlund in Verbindung stehender Cavitäten erforderlich sind, um das Urtheil „bacillenfrei" fällen zu können.

Dieses Verhältniss, die Unmöglichkeit, die Bacillen vertilgen zu können, und der Umstand, dass Diphtheriefälle bei Familien entstehen, zu denen Reconvalescenten, die Monate lang hindurch kein positives Resultat auf Serumculturen gegeben haben, zurückgekehrt sind, giebt, finde ich, dem Arzt eine gewisse Berechtigung, vorläufig nicht allzu rigorös in seinen Verhaltungsmaassregeln zu sein. Da das praktische Leben es erfordert, wird es uns auch sicherlich bald einen Modus vivendi den bacillentragenden Reconvalescenten gegenüber lehren.

Die Auffassung, dass die Ansteckungsgefahr geringer wird mit der Zeit, und dass man also in der ersten Zeit nach der Krankheit besonders ängstlich sein müsse, scheint ganz allgemein zu sein.

Bei den von mir als vermuthlich angesteckten 7 Fällen waren nach der Heilung des Ansteckenden (ich denke nur an die localen Processe)

4 Mal weniger als 1 Monat vergangen,
1 „ mehr „ 1 „ „
1 „ „ „ 2 Monate „
1 „ „ „ 3 „ „

bevor die vermuthete Ansteckung entstand. Dies könnte vielleicht darauf hindeuten, dass die Virulenz beim Menschen in der ersten Zeit der Reconvalescenz am grössten ist.

In dem Falle ist kein Parallelismus zwischen der Pathogenität beim Menschen und der Virulenz beim Meerschweinchen vorhanden, denn die Virulenzprobe zeigte keine Abnahme der Virulenz bei diesen Thieren, die proportional mit der Zeit war, die seit dem Aufhören der Krankheit vergangen war, oder mit anderen Worten, mit dem Alter des Bacillus.

In Analogie mit verschiedenen anderen Verhältnissen, die zeigen, dass die Bakterien, wenn sie ihre pathogene Mission ausgeführt haben, nach und nach an Virulenz verlieren, sollten die Diphtheriebacillen also

[1] Man könnte vermuthen, dass der Grund des zeitweiligen Verschwindens der Diphtheriebacillen von einer Invasion von anderen, möglicher Weise mit der Nahrung in die Fauces eingeführten Bakterien herrühre, die, ohne pathogen zu sein, nur, indem sie sich wie Saprophyten vermehren, für eine Zeit die Diphtheriebacillen zurückdrängen. Eine solche Invasion würde natürlich keine klinischen Symptome ergeben.



immer weniger und weniger gefährlich werden, je nachdem der Zeitpunkt des Aufhörens der Krankheit immer ferner und ferner liegt. Es scheint mir nicht unberechtigt, wenn man sich diese Auffassung als praktisches Ergebniss rechnet, aber selbstverständlich sind mehrere Untersuchungen über das Entstehen der Ansteckung in den verschiedenen Stadien der Reconvalescenz nöthig, bevor man das mit Sicherheit behaupten kann.

Im Ganzen scheint es mir ungemein einleuchtend, dass die ganze Frage in Bezug auf die Isolirung bacillentragender Diphtherie-Reconvalescenten die Ansteckungsgefahr u. s. w. nur auf ganz empirisch-statistischem Wege gelöst werden kann, und zwar durch Massenuntersuchungen von entlassenen Reconvalescenten und Monate lange Controle mit den Familien, zu denen sie zurückgeschickt worden sind.

Bevor ein auf diesem Wege gesammeltes gesetzgebendes Material vorliegt, ist die persönliche Erfahrung und das individuelle Urtheil maassgebend. Denn wenn man erst einen begrenzten Zeitraum der Reconvalescenz gefunden hat, innerhalb welchem die Ansteckungsgefahr maximal ist, so müssen die praktischen Verhaltungsmaassregeln, die den Reconvalescenten gegenüber getroffen werden, allen gelten, und es darf keine Rücksicht darauf genommen werden, ob man bei den Betreffenden zufällig Diphtheriebacillen gefunden hat, oder nicht. Es muss dann wohl eine gewisse Isolirungszeit bestimmt werden für alle Diphtheriereconvalescenten. sowie sie für Scharlachpatienten bestimmt ist.

Das Blegdamsspital begnügte sich vorläufig mit folgendem Vorgehen. Wenn der Reconvalescent nach dem Aufhören der Krankheit 1 Monat im Freien gewesen ist und noch immer Diphtheriebacillen nachgewiesen werden können, wird er entlassen und man erlaubt ihm, die Schule zu besuchen, indem man ihm, wenn es gewünscht wird, ein Zeugniss giebt, dass er „vermuthlich“ nicht mehr anstecken kann. Weil man einsieht, wie hoffnungslos und unmöglich es ist, bestimmen zu wollen, wenn ein Reconvalescent „bacillenfrei“ ist, freut man sich, wenn die zwei Culturen mit negativem Resultat, denen zu Folge man ihn entlässt, wirklich keine Diphtheriebacillen erweisen, ja man ist froh, weil man einen gesunden Menschen los wird, den man auf unsere Verantwortung hin unter ansteckenden Kranken herumgehen lässt, ohne dass wir den ihn zurückhaltenden Grund entfernen können.

Es könnte ja auch vermuthet werden, dass die Reihe der Culturen von ansteckenden Patienten, durch die wahrscheinlich grössere Lebensfähigkeit der Bakterien eine ununterbrochene Reihe von positiven Befunden ergeben könnte, so dass man vielleicht hierin einen Fingerzeig hätte, ob bei dem Betreffenden eine Ansteckungsgefahr sei oder nicht.



Bei den 7 Fällen von Ansteckung, deren Wahrscheinlichkeit ich früher besprochen habe, fand ich aber keine solche Continuität. Bei allen waren mehrere negative Lücken in der Reihenfolge.

Bevor ich schliesse, will ich noch kurz mittheilen, dass man bei einem bacillentragenden Reconvalescenten, einem 26jährigen Arzte, die Lichtbehandlung in Prof. Finsen's Institut versucht hat, obwohl man im Voraus keine grossen Erwartungen darauf gesetzt hat in Anbetracht der anatomischen Verhältnisse der Region, die dem Lichte ausgesetzt wurde.

Die Behandlung wurde in drei Sitzungen 3 Tage hintereinander fortgesetzt.

Am ersten und letzten Tage richtete man den Lichtkegel, der eine Stärke von 35 Ampère hatte, 10 Minuten lang auf jede Mandel. Am zweiten Tage 20 Minuten auf jede Seite. Die Fauces waren ganz normal, als man mit der Behandlung begann. Unmittelbar vor und nach den Sitzungen machte man Culturen von jeder einzelnen Mandel, indem man annahm, dass eine eventuelle Wirkung unmittelbar nach der Behandlung am deutlichsten erkennbar sein müsse.

Bei keiner Cultur von den drei Tagen war irgend welcher Unterschied zu bemerken. Die Colonieen sowohl vor, als nach der Behandlung waren ungemein zahlreich.

Nach der ersten Sitzung entstand ein juckendes Erythem um den Mund herum und eine starke Hyperämie der Uvula und der hinteren Schlundwand.

Nach der zweiten Sitzung ausgesprochene Schluckbeschwerden.

Nach der dritten Sitzung weisse Flecken auf beiden hinteren Gaumenbögen; starke Angina. Fissur in dem linken Mundwinkel.

Er wurde jetzt als Patient behandelt. 2 Tage später wurde beim Ausspülen eine beiläufig 1 ^{cm} im Durchmesser grosse diphtherieähnliche Membran abgestossen, und mehrere Tage hindurch waren kleinere Belege in den Fauces.

Man machte dann etwa eine Woche hindurch täglich Culturen, wobei jedoch nur 2 Mal Diphtheriebacillen nachgewiesen werden konnten. 10 Tage später noch Diphtheriebacillen, die aber dann in den darauf folgenden 2 Monaten nicht mehr nachgewiesen werden konnten.

Diese Krankengeschichte ermuntert, wie man sie auch auffassen mag, nicht zur Fortsetzung der Versuche mit Lichtbehandlung. Unser Armamentarium wartet den hartnäckigen Bacillen gegenüber noch immer auf ein wirksames Mittel, sei es nun, dass dieses aus Chemikalien, aus Röntgenstrahlen, aus Bakterien oder vielleicht deren Stoffwechselproducten bestehe.



Das Einzigste, das, wie wir gesehen haben, einen Einfluss auf die Bacillen hat, sind intercurrente neue Infectionen; und dies könnte wohl auch darauf hindeuten, dass es die Bakteriologie sein wird, die den Sieg im Kampfe mit den Diphtheriebakterien davontragen wird.

Zuletzt spreche ich noch dem Primarius des Blegdamshospitals, Herrn Prof. Dr. med. Sörensen, meinen Dank aus, dass er mir erlaubt hat, das reichhaltige Material zu benutzen; ebenso meinem Mitarbeiter, Herrn Dr. med. Fibiger, der mir die Veröffentlichung unserer Arbeit überlassen hat.



[Aus dem königl. preuss. Institut für experim. Therapie zu Frankfurt a/M.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. P. Ehrlich.)

Ueber das Staphylotoxin.

Von

Dr. **Max Neisser** und Dr. **Friedrich Wechsberg**.
Mitglied des Instituts.

Von bakteriologischer Seite wird über die Staphylokokken seit längerer Zeit nicht mehr viel gearbeitet; ist doch auch die Züchtung der Staphylokokken so leicht, dass schon in den ersten Zeiten der Bakteriologie die Staphylokokken Gegenstand der ausführlichsten Untersuchungen seitens Bakteriologen, Klinikern und Pathologen gewesen sind.

Und doch sind noch so manche Cardinalfragen unbeantwortet. So finden wir Staphylococci aurei im Eiter, auf der gesunden Haut, auf gesunden und kranken Schleimhäuten, in der Vaccine, in der Luft u. s. w., und immer wieder erhebt sich die Frage: Ist das jedesmal der typische Staphylococcus pyogenes aureus, ja giebt es überhaupt eine circumscripte Species Staphylococcus pyogenes aureus, oder aber haben wir es, wie vielleicht bei den Streptokokken, mit verschiedenen, für den Menschen pathogenen Arten zu thun? — eine Frage, die in ihren therapeutischen und hygienischen Consequenzen gleich wichtig ist. Und dieselbe Unsicherheit besteht in vielleicht noch grösserem Maasse für die weissen Staphylokokken. Auch diese findet man sehr häufig als augenscheinlich harmlose Saprophyten, bis man bei manchen Befunden wieder an ihre pathologische Bedeutung gemahnt wird.

Auffallend wenig hat man sich bisher mit dem Gifte der Staphylokokken beschäftigt. Wohl hat man gekochte oder ausgefällte Bouillon-Vollculturen auf ihre Giftigkeit untersucht (und ihre Wirkung nicht sehr beträchtlich befunden), aber die Filtrate der Staphylokokken sind bisher



in systematischer Weise noch nicht von sehr zahlreichen Forschern untersucht worden, so dass Frosch und Kolle in den Flügge'schen Mikroorganismen im Jahre 1896 noch schreiben konnten: Von einer Secretion giftiger oder eitererregender Substanzen hat sich bei den Staphylokokken nichts nachweisen lassen.

Erst van de Velde lenkte die Aufmerksamkeit wieder auf das Staphylokokkengift, als es ihm gelang, das von ihm entdeckte, bei Staphylokokkeninfectionen auftretende Leukocytengift (Leukocidin) auch in den keimfreien Staphylokokkenfiltraten nachzuweisen. Van de Velde fand auch schon, dass nicht nur weisse Blutkörperchen, sondern auch die Hämatoblasten des Knochenmarks, ja auch manche Nervenzellen, durch dieses Staphylokokkengift zerstört würden.

In neuerer Zeit hat Krauss[1] kurz constatirt, dass in der That manche rothen Blutkörperchen durch Staphylokokkenfiltrate aufgelöst würden.

In seiner Monographie hat sich dann v. Lingelsheim[2] unter anderem auch mit den Staphylokokkengiften beschäftigt. Er bestätigt zunächst die Angaben van de Velde's bezüglich des Leukocidins und giebt an, dass das Staphylokokkengift im subcutanen Gewebe starke entzündungserregende und nekrotisirende Eigenschaften entfaltet, deren Zusammenhang mit dem Leukocidin er noch offen lässt. Auch auf die inneren Organe wirkt dieses Gift, was sich in trüber Schwellung der Nieren und beginnender fettiger Degeneration des Herzens u. s. w. documentirt.

Bei diesem Stande der Dinge schien es uns lohnend zu sein, in systematischer Weise das Staphylotoxin sensu strictiori, also die Staphylokokkenfiltrate zu untersuchen, zumal da gerade aus dem Studium der Toxine und ihrer Antitoxine eine Reihe theoretisch höchst wichtiger Erkenntnisse hervorgegangen sind.

I. Das Hämolysin der Staphylokokken.

Man kann sich leicht davon überzeugen, dass der Staphylococcus pyogenes aureus ein Hämolysin bildet, indem man eine Serie Reagensröhrchen, die mit 2 ccm Bouillon beschickt sind, mit dem Staphylococcus impft. Vom 3. oder 4. Tage an untersucht man dann täglich ein Röhrchen

[1] *Wiener klin. Wochenschrift.* 1900. Nr. 3.

[2] *Aetiologie und Therapie der Staphylokokken-Infectionen.* Berlin-Wien 1900.



durch Zugabe eines Tropfens defibrinirten Kaninchenblutes. Nach zweistündigem Aufenthalt im Brutschrank und nach weiterem 18 stündigen Verweilen im Eisschrank sieht man dann die Lösung der Blutkörperchen. Dieses Hämolysin geht in die Flüssigkeit über und ist durch Filtration leicht in keimfreiem Zustand zu erhalten. Macht man mit abfallenden Mengen dieses keimfreien Filtrates Reihen, so findet man leicht die Grenzen der „completen" Lösung und die Grenze, wo keine Spur der Lösung mehr vorhanden ist. Als „complete" Lösung (Lc) ist im Folgenden stets diejenige Probe bezeichnet, bei welcher ein Umschütteln keinerlei corpusculäre Elemente mehr erkennen lässt. Dann folgt „fast complet", wenn noch ganz geringe Stromareste vorhanden, dann „incomplet", wenn ein deutlich zusammenhängendes Sediment zu constatiren war. Es folgt dann „ganz roth", „starke Kuppe", „Kuppe", „Spur", „0".

Bevor an die systematische Untersuchung verschiedener Staphylokokkenfiltrate gegangen werden konnte, war die Beantwortung mehrerer Vorfragen nöthig. Einmal mussten die optimalen Bedingungen für die Entstehung des Giftes gefunden werden, andererseits war es erforderlich, sich über die Empfindlichkeit und die genügende Constanz des Indicators (Erythrocyten) zu vergewissern.

Einfluss der Alkalität der Bouillon auf die Production des Staphylolysins.

Es galt zunächst festzustellen, welcher Alkalitätsgrad der Bouillon für die Hämolysinproduction am vortheilhaftesten sei, und es wurde deshalb, wie übrigens stets bei unseren hiesigen Nährböden, der Alkalitätsgrad titrimetrisch in folgender Weise festgestellt:

Aus der in gewöhnlicher Weise hergestellten Bouillon wurden vor dem Filtriren einige Röhrchen mit je 10 ^{ccm} beschickt und mit Phenolphthalëin versetzt. Zur Titrirung wurde ein Gemisch von Normal-Kali- und Normal-Natronlauge zu gleichen Theilen, das im Verhältniss 1:10 mit Wasser verdünnt wurde, benutzt. Die deutliche Rothfärbung war die Grenze. Durch Umrechnung wurde diejenige Menge Normallauge gefunden, welche für den ganzen Kolben erforderlich gewesen wäre, um für Phenolphthalëin Rothumschlag hervorzurufen. Von dieser berechneten Menge wurde aber nur ein aliquoter Bruchtheil zugesetzt. Und zwar bedeutet demnach eine $^1/_6$ Bouillon eine solche, welcher von der zur völligen Neutralisirung (für Phenolphthalëin) nothwendigen Menge Normal-Natron-Kalilauge nur $^1/_6$ zugesetzt war. Der Einfluss der Alkalität der Bouillon auf die Bildung des Hämolysins erhellt aus folgender Tabelle I.



Tabelle I.

Einfache complet lösende Dose (Lc) verschiedener Stämme bei verschiedener Alkalität der Bouillon.

Stamm	Alkalität $^1/_6$	Alkalität $^2/_6$	Alkalität $^3/_6$	Alkalität $^4/_6$
11 (5tägig)	0·05	0·05	0·05	0·25
11 (9 „)	0·075	0·025	0·05	0·075
11 (13 „)	—	0·05	0·075	> 1·0
12 (13 „)	0·075	0·05	0·075	0·1
13 (13 „)	—	0·075	> 1·0	> 1·0
14 (13 „)	—	deutlich lösend, aber in der Menge von 1·0 ccm noch nicht complet	in der Menge von 1·0 keine Spur Lösung	

Es wurde deshalb gewöhnlich eine $^2/_6$- höchstens eine $^3/_6$ Bouillon benutzt. Bemerkt werde noch, dass der Alkalitätsgehalt der Bouillon, so bedeutend er zwar für die Production des Hämolysins ist, für die Wirkung des Hämolysins auf die rothen Blutkörperchen von verhältnissmässig nebensächlicher Bedeutung ist. Man kann nämlich einem einmal producirten Hämolysin in relativ weiten Grenzen Alkali oder Säure (oder Kochsalz) zusetzen, ohne die Lösung der Erythrocyten wesentlich zu beeinflussen.

Blutart.

Die Frage, welche Arten von Blutkörperchen für das Staphylolysin am empfindlichsten, also am besten als Indicator zu verwenden seien, liess sich nicht dadurch entscheiden, dass man einfach verschiedene Blutarten dem Staphylolysin zusetzte. Es zeigte sich nämlich, dass manche Serumarten die Auflösung der Erythrocyten verhinderten, die aber eintrat, wenn man das den Blutkörperchen anhaftende Serum durch Centrifugiren und Waschen mit physiologischer NaCl-Lösung entfernte. In diesen Fällen hinge dann aber die Auflösung der ungewaschenen Erythrocyten einerseits von der Empfindlichkeit dieser Blutkörperchen, andererseits von dem Schutze, den ihnen das anhaftende Serum gewährt, also von zwei, von einander wahrscheinlich unabhängigen Factoren, ab. Es war deshalb ein glücklicher Zufall, dass Kaninchenerythrocyten an sich die empfindlichsten der von uns untersuchten Arten bildeten, und dass ausserdem das normale Kaninchenserum den Erythrocyten so gut wie gar keinen Schutz gegen die Auflösung gewährte.

Die folgende Tabelle II giebt eine Uebersicht über die Empfindlichkeit verschiedener (serumfreier) Blutkörperchen gegenüber dem Staphylolysin:

Tabelle II.

Einstellung eines Lysins auf verschiedene Blutarten.

(Sämmtliche Blutarten wurden mehrfach centrifugirt und gewaschen, um das anhaftende Serum zu entfernen.)

Toxinmenge ccm	Kaninchen	Hammel	Gans	Hund	Ziege	Schwein	Meerschweinchen	Mensch	Pferd
1·0	complet	roth	Spur	complet	Kuppe	incomplet	starke Kuppe	Kuppe	Kuppe
0·75	„	starke Kuppe	Spürchen	incomplet	„	roth	„ „	Spur	„
0·5	„	„ „	„	Kuppe	Spur	„	Kuppe	0	Spur
0·25	„	„ „	„	Spur	„	starke Kuppe	„	0	Spürchen
0·1	„	„ „	0	„	0	Kuppe	Spur	0	0
0·075	„	Kuppe	0	„	0	Spur	0	0	0
0·05	„	„	0	0	0	0	0	0	0
0·025	incomplet	„	0	0	0	0	0	0	0
0·01	starke Kuppe	Spürchen	0	0	0	0	0	0	0
0·0075	Kuppe	0	0	0	0	0	0	0	0
0·005	„	0	0	0	0	0	0	0	0
0·0025	Spürchen	0	0	0	0	0	0	0	0
0·001	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Es wurden deshalb späterhin ausschliesslich Kaninchenblutkörperchen benutzt, auch schon deshalb, weil es, wie erwähnt, nicht nöthig war, die Kaninchenblutkörperchen zu centrifugiren und zu waschen.

Die folgende Tabelle III zeigt, dass die Empfindlichkeit der genuinen und der gewaschenen Kaninchenerythrocyten eine gleich grosse war.

Tabelle III.

Einwirkung eines Staphylotoxins auf gewaschene und nicht gewaschene Blutkörperchen verschiedener Kaninchen.

Toxinmenge ccm	Blutkörperchen von Kaninchen I		Blutkörperchen von Kaninchen II		Blutkörperchen von Kaninchen III	
	gewaschen	nicht gewaschen	gewaschen	nicht gewaschen	gewaschen	nicht gewaschen
1·0	complet	complet	complet	complet	complet	complet
0·75	„	„	„	„	„	„
0·5	„	„	„	„	„	„
0·25	„	„	„	„	„	„
0·1	„	fast complet	fast complet	fast complet	„	„
0·075	fast complet	„	„	„	fast complet	fast complet
0·05	incomplet	incomplet	incomplet	incomplet	incomplet	incomplet
0·025	„	roth	„	roth	„	roth
0·01	starke Kuppe	Kuppe	starke Kuppe	starke Kuppe	roth	starke Kuppe
0·0075	„	„	„	Kuppe	starke Kuppe	„
0·005	Kuppe	„	Kuppe	„	Kuppe	Kuppe
0·0025	„	Spur	„	kleine Kuppe	„	„

Noch eine Vorfrage war zu beantworten. Es fragte sich nämlich, ob die Empfindlichkeit der Erythrocyten verschiedener Kaninchen gegenüber demselben Gifte eine einigermaassen constante Grösse sei. Hatte doch z. B. Madsen[1] beim Tetanolysin erhebliche Verschiedenheiten bei verschiedenen Kaninchenblutarten gegenüber demselben Tetanusgifte gefunden. Für das Staphylolysin können wir sagen, dass die Blutkörperchen verschiedener Kaninchen bezüglich der Grenze „complete Lösung“ erhebliche Schwankungen in ihrer Empfindlichkeit nicht aufweisen, es ergeben sich aber starke Verschiedenheiten, wenn man die Grenze „Null“ mit

[1] *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXII. S. 214.

verschiedenen Kaninchenblutarten einstellt. Wir erklären uns das, nach dem Vorgange von **Madsen**, damit, dass nicht alle Blutkörperchen eines Thieres die gleiche Empfindlichkeit gegenüber dem Staphylolysin besitzen. Augenscheinlich stets vorhanden sind jene verhältnissmässig resistenten Erythrocyten, welche einer bestimmten Menge des Giftes (Lc) bedürfen, um gelöst zu werden. Aber nicht immer vorhanden sind jene empfindlichen Blutkörperchen, welche durch solche geringe Mengen Gift noch aufgelöst werden, die für die resistenteren Erythrocyten noch belanglos sind. Ein Blut also, das diese empfindlichen Blutkörperchen in grösserer Menge enthält, wird durch ganz kleine Toxinmengen noch spurweise aufgelöst werden, die bei einem anderen Blut, das frei von diesen empfindlichen Blutkörperchen ist, bereits den Lo-Werth repräsentiren.

Die folgende Tabelle IV zeigt denn auch, wie bei gleichem Lc-Werth der Lo-Werth verschieden sein kann.

Tabelle IV.

Einstellung eines Toxins (Stamm 11) mit Blutkörperchen verschiedener Kaninchen.

Toxinmenge ccm	Kaninchen Nr. 1	Kaninchen Nr. 2	Kaninchen Nr. 3
1·0	complet	complet	complet
0·75	,,	,,	,,
0·5	,,	,,	,,
0·25	,,	,,	,,
0·1	,,	,,	,,
0·075	,,	,,	,,
0·05	,,	,,	,,
0·025	incomplet	incomplet	incomplet
0·01	Kuppe	roth	roth
0·0075	,,	,,	,,
0·005	,,	starke Kuppe	,,
0·0025	0	Kuppe	Kuppe
0·001	0	0	,,
0·00075	0	0	,,
0·0005	0	0	Spürchen
0·00025	0	0	0

Definitive Art der Untersuchung.

Die Untersuchung auf das Hämolysin geschah auf Grund der vorher erwähnten Versuche stets derart, dass von jedem Stamme ein oder mehrere Kölbchen à 50 ccm Bouillon von der Alkalität $^{2}/_{8}$, selten $^{3}/_{8}$ beimpft und verschieden lange Zeit, gewöhnlich 9—13 Tage, im Brutofen belassen



wurden. Nach dieser Zeit wurde die Bouillon durch ein Reichel-Filter[1] filtrirt, das Filtrat mit Carbol versetzt (es wurde folgende Carbollösung benutzt: 10 Carbol, 20 Glycerin, 70 Aqua, davon 5 auf 100 Filtrat) und eventuell im Eisschrank aufbewahrt.

Die Prüfung geschah so, dass in eine Reihe Reagensröhrchen fallende Mengen des Filtrates gegeben wurden, welche überall durch Zugabe von 0·85 procentiger Kochsalzlösung auf 2 ccm aufgefüllt wurden. Dazu kam je ein Tropfen frisches defibrinirtes Kaninchenblut. Die Röhrchen blieben 2 Stunden bei 37° und über Nacht im Eisschrank. Ein eventuell gefundenes Hämolysin wurde dann durch einen Inactivirungsversuch auf seine Thermolabilität geprüft und ausserdem durch Zusatz von specifischem Antistaphylolysin neutralisirt.

Termine der Hämolysinproduction.

Das Hämolysin ist zeitigstens am 4. Tage zu constatiren, seine Menge steigt dann bis etwa zum Ende der 2. Woche, um von da ab nicht mehr zuzunehmen, vielmehr gewöhnlich zu fallen. Zwischen dem 10. und dem 14. Tage scheint der Höhepunkt der Hämolysinproduction im Allgemeinen zu liegen. Wir haben in der letzten Zeit die Culturen gewöhnlich 13 Tage lang wachsen lassen (Tabelle V).

Tabelle V.

Untersuchung verschiedener am gleichen Tage angesetzter Giftkolben nach verschieden langem Wachsthum. (Stamm 11.)

Toxinmenge ccm	Nach 2 Tagen	Nach 4 Tagen	Nach 6 Tagen	Nach 8 Tagen	Nach 13 Tagen	Nach 16 Tagen
1·0	0	Spur	complet	complet	complet	complet
0·75	0	„	„	„	„	„
0·5	0	„	„	„	„	„
0·25	0	„	„	„	„	„
0·1	0	Spürchen	„	„	„	„
0·075	0	0	fast compl.	„	„	fast compl.
0·05	0	0	incomplet	„	„	incomplet
0·025	0	0	roth	„	„	roth
0·01	0	0	starke Kuppe	fast complet	fast complet	Kuppe
0·0075	0	0	Kuppe	incomplet	incomplet	Spur
0·005	0	0	Spur	roth	„	Spürchen
0·0025	0	0	0	Kuppe	roth	0
0·001	0	0	0	Spur	Kuppe	0

[1] Die benutzten Filter wurden durch vorsichtiges Ausglühen in einem kleinen Muffelofen zu weiteren Filtrationen wieder brauchbar gemacht.



Quantität.

Die einzelnen Stämme differiren sehr in der Menge des von ihnen gebildeten Hämolysins. Eine directe Beziehung der Hämolysinmenge zur Menschenvirulenz scheint nicht zu bestehen, da wir einerseits aus Eiter Stämme gezüchtet haben, deren Hämolysinproduction gering war, während wir andererseits auf der normalen Mundschleimhaut unseres Dieners einen starken Hämolysinproducenten fanden.

Auch die Virulenz für Kaninchen scheint uns nach besonderen Versuchen nicht direct parallel mit der Hämolysinproduction zu gehen; wohl aber lässt sich die Hämolysinbildung eines Stammes durch fortgesetzte Thierpassage (Kaninchen intrapleural) gelegentlich sehr steigern.

Conservirung.

Das keimfreie mit Carbol versetzte Staphylotoxin lässt sich im Eisschrank wochen- und monatelang conserviren, ohne eine wesentliche Einbusse seiner Wirksamkeit zu erleiden. Manchmal allerdings ist uns doch ein derartiges Gift allmählich stark in seiner Wirkung zurückgegangen. Im Brutschrank, zumal bei etwas starker Alkalität, nimmt das Hämolysin schnell ab und kann in etwa 2 Wochen völlig verschwunden sein.

Inactivirung.

Durch Hitze ist das Hämolysin in vollständiger Analogie zu anderen Bakterientoxinen leicht zu zerstören. Wie aus der Tabelle VI hervorgeht, wird das Hämolysin schon bei 48° geschädigt und bei 56° (20 Minuten) vollständig zerstört. Man hat durch die leichte Inactivirbarkeit ein bequemes Mittel, um sich davon zu überzeugen, dass eine durch ein Staphylokokkenfiltrat eintretende Hämolyse wirklich durch einen toxinartigen Körper bedingt ist. Wir haben uns deshalb bei jedem Stamme von der Inactivirbarkeit seines Hämolysins überzeugt.

Tabelle VI.

Inactivirung des Hämolysins bei verschiedenen Temperaturen. (Stamm 11.)

Lc = 0·01 ccm.

Toxinmenge ccm	20 Minuten 45°	20 Minuten 48°	20 Minuten 50°	20 Minuten 56°
1·0	complet	complet	Kuppe	0
0·75	„	„	„	0
0·5	„	„	Spur	0
0·25	„	fast complet	„	0
0·1	„	incomplet	0	0
0·075	„	starke Kuppe	0	0



Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Toxinmenge ccm	20 Minuten 45°	20 Minuten 48°	20 Minuten 50°	20 Minuten 56°
0·05	complet	Kuppe	0	0
0·025	„	Spur	0	0
0·01	fast complet	0	0	0
0·0075	incomplet	0	0	0
0·005	starke Kuppe	0	0	0
0·0025	Kuppe	0	0	0
0·001	0	0	0	0

Vorkommen des Hämolysins der Staphylokokken.

Um einen Einblick in die Verbreitung des Staphylolysins zu gewinnen, war es nöthig, eine grössere Anzahl von Staphylokokken möglichst verschiedener Herkunft herauszuzüchten (Tabelle VII, VIII).

Tabelle VII. Stämme von Staphylococcus aureus.

Lfd. Nr.	Herkunft	Verflüssigung der Gelatine im Stich	Verflüssigung vom Löffler'schen Serum im schrägen Röhrchen
1	Schulterabscess bei multipler Furunkulose und Pyämie	+++	
2	Inficirte Fusswunde	+++	
3	Unterschenkelphlegmone	++	
4	Nackenfurunkel	+	
5	Glutaealabscess	+	
6	Mammaabscess	++	
7	Jahrelang fortgezüchteter Stamm aus dem Breslauer hygien. Institut	+	
8	Eiter?	+	
9	Vereitertes Kniegelenk	++	
10	Luft	+	
11	Urininfiltration	++	0
12	Vaccine (Stettin)	+	0
13	Mundhöhle des gesunden Labor.-Dieners	+	
14	Mundhöhle	+	
15	Vaccine (Köln)	++	+++
16	Ekzem (VII)	+	+
17	Ekzem (III)	+	+
18	Ekzem (VI)	+	0
19	Luft	0	
20	Aus Belag bei bakteriol. erwiesener Diph.	+	0
21	Panaritium	+	0
22	Muskelabscess	+	0
23	Mastitis puerperalis	+	0
24	Furunkel II	+	0
25	Bei Angina fast in Reincultur gefunden	+	0



Tabelle VIII.
Stämme von Staphylococcus albus.

Lfd. Nr.	Herkunft	Verflüssigung von Gelatine im Stich	Verflüssigung vom Löffler'schen Serum im schrägen Röhrchen
1 a	Comedo	0	0
2 a	Wuchs spärlich aus demselben Eiter, aus dem in reichlichster Menge Stamm 1 (Staphylococcus aureus) gezüchtet wurde	+ (sehr wenig)	+ (sehr wenig)
3 a	Wuchs spärlich aus demselben Eiter, aus dem in reichlichster Menge Stamm 2 (Staphylococcus aureus) gezüchtet wurde	0	0
4 a	In Reincultur aus Hautabscess	+	0
5 a	Ekzem (I)	+	0
6 a	Jahrelang fortgezüchteter Stamm aus dem Breslauer hygienischen Institute (wahrscheinlich Haut)	spurweise	spurweise
7 a	Normale Haut	0	0
8 a	desgl.	0	0
9 a	desgl.		

Die Stämme waren zum grössten Theil selbst herausgezüchtet, einige wenige von auswärts erbeten. So lieferte uns Hr. Dr. Czaplewski (Köln) vier Stämme seines in Vaccine gefundenen Quadrigeminus[1], die wir uns erbaten, als wir selbst in einer Vaccine einen derartigen Stamm gefunden hatten. 4 Stämme gingen uns durch Hrn. Dr. Scholz (Breslau, Dermatologische Klinik) zu, die er aus verschiedenen Ekzemen gezüchtet hatte. Beiden Herren sei an dieser Stelle nochmals gedankt. Alle Aurei zeigten schöne Farbstoffbildung, ebenso wie auch die Albi völlig weiss wuchsen. Einen Uebergang von Aureus in Albus haben wir nie beobachtet. In morphologischer und tinctorieller Beziehung waren alle Stämme typisch. In cultureller Beziehung sei bemerkt, dass fast sämmtliche Aurei die Gelatine typisch verflüssigten, während schräg erstarrtes Löffler'sches Rinderblutserum nur von den Quadrigeminusstämmen stark verflüssigt wurde. Von den Albusstämmen verflüssigten einige die Gelatine, andere nicht.

Auf Pathogenität konnten nur wenige Stämme geprüft werden. Stamm 11 tödtete Kaninchen mit Sicherheit in einigen Tagen, wenn $^1/_2$ Oese frischer Agarcultur intravenös injicirt wurde. Die Wirkung von $^1/_{10}$ Oese war unsicher. Auch intrapleurale Injectionen nicht zu kleiner Mengen waren wirksam.

[1] Diese vier Aureus-Stämme, welche in den Tabellen nicht aufgeführt sind, bildeten keine Spur Hämolysin. Sie verflüssigten alle das Löffler-Serum sehr stark.



Um weisse Mäuse mittels intraperitonealer Injection innerhalb 3 Tagen zu tödten, waren erforderlich:

von Stamm 1 . . . . . 0·03 ccm 1 tägige Bouilloncultur.
„ „ 9 . . . . . 0·06 „ „ „
„ „ 11 . . . . . 0·25 „ „ „
„ „ 4 . . . . . 0·06 „ „ „

Die folgenden Tabellen (Tab. IX, X) zeigen die Resultate der Hämolysinprüfungen, wobei bemerkt werde, dass sämmtliche Untersuchungen mehrfach und zwar mit verschiedenen Filtraten ausgeführt wurden.

Tabelle IX.
Quantität der verschiedenen Lysine. Staphylococcus aureus.

Nr. des Stammes	Lc (einfache complet lösende Dose) ccm	Wie vielfach normal, wenn ein Gift, dessen Lc = 0·1 als normal angenommen wird	Nr. des Stammes	Lc (einfache complet lösende Dose) ccm	Wie vielfach normal, wenn ein Gift, dessen Lc = 0·1 als normal angenommen wird
1	0·2	$^1/_2$	14	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$
2	0·05	2	15	—	—
3	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	16	0·5	$^1/_5$
4	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	17	0·25	$^2/_5$
5	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	18	0·075	1·33
6	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	19	—	—
7	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	20	0·5	$^1/_5$
8	0·75	0·133	21	0·5	$^1/_5$
9	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	22	0·75	0·133
10	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$	23	$>$ 1·0	$< {}^1/_{10}$
11	0·0075	13·3	24	0·5	$^1/_5$
12	0·05	2	25	0·0075	13·3
13	0·75	1·33			

Tabelle X.
Quantität der verschiedenen Lysine. Staphylococcus albus.

1 a	—	—	6 a	—	—
2 a	—	—	7 a	—	—
3 a	—	—	8 a	—	—
4 a	0·025	4	9 a	—	—
5 a	0·1	1			

Der Strich in den Colonnen bedeutet, dass diese Stämme überhaupt keine Spur Hämolysin producirt haben.

Die Resultate vorstehender Tabellen lassen sich dahin zusammenfassen:

Alle aus menschlichen Eiterungen gezüchteten Aureusstämme bildeten ein Hämolysin.

Drei aus Ekzem gezüchtete Aurei bildeten ebenfalls Hämolysin. Ebenfalls Hämolysinbildner waren Aurei, die von gesunder oder erkrankter Mundschleimhaut stammten.

Gleichfalls hämolysinbildende Aurei fanden wir in der Laboratoriumsluft und einmal in Vaccine.

Dagegen fanden wir einmal in der Luft einen Aureus, der keine Spur Hämolysin bildete, und ebenso erwiesen sich die Quadrigeminusstämme aus Vaccine als hämolysinfrei. Dass diese Quadrigeminusstämme, wie schon Czaplewski angegeben hat, sich auch culturell von dem typischen Staphylococcus pyogenes aureus unterscheiden (Verflüssigung des Löffler-Serums), konnten wir durchaus bestätigen.

Und ebenso unterschied sich der hämolysinfreie Luftaureus culturell von dem typischen Staphylococcus pyogenes aureus.

Das Hämolysin aller übrigen Stämme erwies sich durch die gleichen Eigenschaften, besonders aber durch die Neutralisirung mittels eines einzigen künstlichen Antitoxins in allen Fällen als das gleiche.

Wir glauben deshalb, dass das Hämolysin ein constantes Merkmal des typischen Staphylococcus pyogenes aureus ist, und dass es stets nachzuweisen ist, sofern man unter den angegebenen Bedingungen züchtet und untersucht.

In Consequenz dieser Anschauung müssen wir deshalb auch annehmen, dass die von uns in Luft, auf Schleimhäuten und in einer frischen Vaccine gefundenen hämolysinbildenden Aurei als typische Staphylococci pyogenes aurei anzusprechen sind. Auch die Ekzem-Aurei waren in Nichts vom typischen Staphylococcus pyogenes aureus verschieden.

Bezüglich der Albusstämme können wir sagen, dass die beiden als alleinige Mikroben aus Eiter gezüchteten Albusstämme sich nur durch ihren Farbstoff vom typischen Staphylococcus pyogenes aureus unterschieden. Sie bildeten beide Hämolysin, das sich durch die Neutralisirung mit künstlichem Aureusantitoxin als identisch mit dem Aureuslysin erwies.

Die übrigen Albusstämme, von Haut u. s. w. stammend, bildeten keine Spur Hämolysin, und manche unterschieden sich auch culturell durch Nichtverflüssigung der Gelatine von dem typischen Staphylococcus pyogenes albus.

Wir müssen deshalb annehmen, dass der typische Staphylococcus pyogenes aureus und der typische Staphylococcus pyogenes albus ein Hämolysin, und zwar ein und dasselbe Hämolysin bilden.

Ausser diesen pyogenen Arten, die culturell und durch das Toxin wohlcharakterisirt sind, giebt es sowohl Aureus- wie



Albusstämme (wohl pathologisch ohne Bedeutung), die sich häufig schon culturell, sicher aber durch den dauernden Mangel jeglicher Hämolysinbildung von den typischen pyogenen Arten unterscheiden.

Ob unser Urtheil als ein endgültiges anzusehen ist, oder ob es wegen eines zu kleinen Materiales noch der Modificirung bedarf, wird nur durch vielfältige Untersuchung zahlreicher Stämme zu entscheiden sein.

Antitoxin in manchen normalen Seris.

Wie bereits oben erwähnt, lösen sich manche Blutkörperchen nicht auf, solange sie von ihrem Serum umgeben sind, das man aber nur durch Centrifugiren und Waschen zu entfernen braucht, um alsbald Auflösung der Erythrocyten durch das Staphylolysin zu erzielen. Aber solch ein Serum schützt nicht nur die Erythrocyten der eigenen Species, sondern schützt alle Erythrocyten gegen Staphylolysinauflösung. Um das zu zeigen, muss man freilich das Serum erst durch $^1/_2$ stündige Erwärmung auf 56° inactiviren, um die an sich ja häufig vorhandene Lösungskraft eines Serums auf irgend eine Erythrocytenart zu eliminiren (Tabelle XI).

Tabelle XI.

Schutzkraft verschiedener normaler Thiersera gegenüber Staphylotoxin.
(Sera inactivirt bei 56° durch $^1/_2$ Stunde.)
0·2 ccm Staphylotoxin lösen complet.

Toxin-menge	Serum-menge	Perde-Serum	Rinder-Serum	Hammel-Serum	Schweine-Serum	Meerschw.-Serum
0·2 ccm	1·0 ccm	0	0	roth	incomplet	incomplet
„	0·5 „	0	0	„	fast complet	complet
„	0·1 „	0	roth	incomplet	complet	„
„	0·05 „	0	incomplet	complet	„	„

Besonders reich an diesem Antistaphylolysin ist das normale Pferdeserum, von dem manchmal schon 0·01 und weniger genügt, um eine Lc-Dose eines Staphylolysins vollständig zu neutralisiren.

(Zur völligen Vereinigung von Lysin und Antilysin ist ein $^1/_2$- bis 1 stündiges Verweilen bei 37° nöthig.)

Diesen Antikörper des normalen Pferdeserums gegenüber dem Staphylolysin hatte bereits Krauss[1] gefunden. Da ihm aber dieses Pferdeserum die Kaninchenerythrocyten auch gegen die auflösende Wirkung des

[1] A. a. O.



Tetanolysins schützte, meinte er, dass einmal diese beiden Blutgifte identisch seien, und dass ausserdem dieser Schutz der Kanincheneryhtrocyten durch das Pferdeserum gar nicht einem bestimmten Antikörper zuzuschreiben sei.

Der Eine von uns (N.) ist bereits an anderer Stelle[1] auf diesen Punkt eingegangen und hat die Meinung von Krauss als unhaltbar erwiesen. Es mögen hier noch einige Tabellen Platz finden, welche die Verschiedenheit von Staphylolysin und Tetanolysin beweisen (Tab. XII, XIII).

Tabelle XII.

Einstellung eines durch Immunisirung mit Aureus-Toxin gewonnenen Antistaphylolysins gegen Tetanolysin und Staphylolysin.

Tetanolysin . . . . Lc = 0.25 ccm

Staphylolysin . . . Lc = 0·025 ccm.

	Menge des Antiserums ccm	Tetanolysin		Staphylolysin	
	1·0	0·5 ccm = 2 Lc	complet	0·1 ccm = 4 Lc	0
	0·75		„		0
	0·5		„		0
	0·25		„		0
	0·1		„		0
	0·075		„		0
	0·05		„		0
	0·025		„		0
	0·01		„		0
	0·0075		„		Spur
	0·005		„		starke Kuppe
	0·0025		„		incomplet
Controle	—		„		complet

Tabelle XIII.

Neutralisirung eines Staphylolysins durch verschiedene Pferdesera, welche zum Theil von immunisirten Pferden stammten. Lc = 0·02 ccm.

Toxinmenge ccm	Serummenge ccm	Normales Pferdeserum	Tetanusserum (Höchst, Pferd)	Diphtherieserum (Schering 200f., Pferd)	Susserin (Schweinerothl.-Serum Höchst, Pferd)
0·05	0·1	0	0	0	0
0·05	0·05	0	0	0	0
0·05	0·01	Spürchen	starke Kuppe	incomplet	starke Kuppe
0·05	0·005	Kuppe	complet	complet	incomplet
0·05	0·001	fast compl.	„	„	complet

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 49.

Die Tabelle XII zeigt, dass ein beim Kaninchen künstlich erzeugtes Antistaphylolysin (s. später) die Kaninchenerythrocyten nur gegen die Auflösung durch das Staphylolysin, nicht aber gegen die Auflösung durch Tetanolysin schützt.

Die Tabelle XIII zeigt, dass ein mit Tetanusgift immunisirtes Pferd ein Serum liefert, welches gegen Staphylolysin nicht stärker schützt, als normales Pferdeserum oder Serum von anderweitig immunisirten Pferden, während bekanntlich Tetanusantitoxin ausserordentlich stark gegen Tetanolysin schützt.

Aus diesen Tabellen folgt also mit Evidenz die Verschiedenheit von Staphylolysin und Tetanolysin.

In der erwähnten Arbeit sind auch die Versuche mitgetheilt worden, aus denen hervorgeht, dass die schützende Kraft, welche normales Pferdeserum gegenüber Staphylolysin und gegenüber Tetanolysin besitzt, auf zwei von einander unabhängige Antikörper zurückgeführt werden muss. Denn verschiedene Pferdesera enthalten diese beiden Antikörper in ausserordentlich verschiedenen Verhältnissen. Und ausserdem kann man den einen Antikörper völlig neutralisiren, ohne den anderen in seiner Wirksamkeit irgendwie zu beeinflussen.

Da das Staphylolysin auch mit den normalen Thierlysinen nichts zu thun hat, welche ja complexe Körper sind, so ergiebt sich, dass das Staphylolysin ein Blutgift ist, welches, soweit bisher bekannt, nur von den Staphylokokken producirt wird. Gegen dieses Blutgift besitzen manche Sera, z. B. besonders das normale Pferdeserum, einen Antikörper, welcher nur das Staphylolysin zu neutralisiren vermag.

Dieses Antistaphylolysin ist gegen die Hitze resistent, indem es durch $^1/_2$ stündige Einwirkung von 58° in seiner Wirksamkeit nicht geschwächt wird, und es lässt sich deshalb der schon so oft angestellte Versuch der Erhitzung eines neutralen Gemisches auch für das Staphylolysin wiederholen. Stellt man sich nämlich aus Toxin und Antitoxin ein neutrales Gemisch her und setzt dieses einer $^1/_2$ stündigen Erhitzung auf 56 bis 58° aus (bei welcher Temperatur das Toxin zerstört und das Antitoxin unverändert bleibt), so entsteht durch die Erhitzung kein Freiwerden von Antitoxin, woraus folgt, dass die Verbindung Toxin und Antitoxin eine neue, durch Hitze in ihre Componenten nicht mehr zerlegbare ist.



Normales Menschenserum enthält Antistaphylolysin.

Wie der Eine von uns (N.) bereits bei zwei Gelegenheiten erwähnt hat[1], findet sich im Menschenserum constant ein Antikörper gegenüber der blutlösenden Wirkung des Staphylotoxins, ein Körper also, der Kaninchenblutkörperchen gegen ihre Auflösung durch das Staphylotoxin schützt. Freilich kann man diesen Körper erst zur Wahrnehmung bringen, wenn man das Menschenserum vorher durch $^1/_2$ stündige Erwärmung auf 56 bis 57° inactivirt hat, enthält es doch an sich schon, wie so viele Thiersera, ein Lysin für Kaninchenblutkörperchen, dessen Wirkung man aber wie bekannt, durch die Inactivirung ausschalten kann. Um sich von dem Vorhandensein dieses Antistaphylolysins zu überzeugen, genügt es, wenn man in eine Reihe Röhrchen die einfach complet lösende Dosis oder das Mehrfache davon eines beliebigen Staphylolysins einfüllt, und hierzu fallende Mengen eines inactivirten Menschenserums hinzufügt. Das Niveau in allen Röhrchen wird durch 0·85 procentige NaCl-Lösung auf 2 ccm eingestellt, die Gemische kommen zunächst für 1 Stunde in den Thermostaten, dann nach Zufügung eines Tropfens frischen Kaninchenblutes pro Röhrchen für weitere 2 Stunden in den Thermostaten und über Nacht in den Eisschrank. Während die Controle complet gelöst sein muss, wird eine mehr oder minder grosse Zahl der Gemischröhrchen gar keine bezw. beginnende u. s. w. Lösung aufweisen. Macht man denselben Versuch gleichzeitig mit mehreren menchlichen Seris, so findet man Unterschiede in der Wirksamkeit dieser Sera, so zwar, dass das eine Serum um das Zehnfache stärker wirksam sein kann, als ein anderes.

Um nun aber verschiedene Sera, die an verschiedenen Tagen untersucht werden, in ihrer Wirksamkeit vergleichen zu können, genügt es nicht, dass man untersucht, welche Menge Serum die einfach complet lösende Dosis irgend eines Giftes völlig neutralisirt; denn, wie wir noch zu zeigen haben werden, ist das Staphylotoxin in mehr als einer Beziehung dem Diphtheriegift ähnlich und theilt auch mit diesem die Eigenschaft, sich in einen Körper umzuwandeln, welcher zwar Antitoxin bindet, also verbraucht, welcher aber im Uebrigen in keiner Weise in Erscheinung tritt. Dadurch wird aber der Werth der einfachen complet lösenden Dosis als Einheit der Antitoxinbewerthung illusorisch gemacht. Es ginge das nur an, wenn wir gleichmässig umgewandelte Gifte verwenden würden; und das liegt bei der zwar langsamen, aber dauernden Umwandlung eines conservirten Giftes vorläufig ausser dem Bereiche der Möglichkeit.

[1] M. Neisser, *Wiener med. Wochenschrift*, 1900, Nr. 48/49 und *Deutsche med. Wochenschrift*, 1900, Nr. 49.



Man muss deshalb zum Zwecke der Vergleichung des Antitoxingehaltes verschiedener menschlicher Sera — nach Analogie der Ehrlich'schen Diphtherie-Antitoxin-Prüfung[1] — von einem unveränderlichen, also am besten in eingetrockneter Form aufbewahrten Standardserum ausgehen. Als solches benutzen wir ein normales, ziemlich wirksames, eingetrocknetes Pferdeserum. Es wird im Verhältniss 1:10 jedes Mal frisch in sterilem destillirten Wasser gelöst, und mit diesem Antitoxin werden die zu untersuchenden Sera verglichen.

Man giebt also in eine Reihe Röhrchen die gleiche Menge eines Staphylolysins, und zwar mindestens die einfache complet lösende Dosis, und füllt nun einerseits fallende Mengen des Standardantitoxins, andererseits fallende Mengen des zu untersuchenden Antitoxins hinzu. Die Vergleichung beider Reihen ergiebt dann das Verhältniss der Wirksamkeit des untersuchten Antitoxins zu der (constanten) des Standardantitoxins.

Wir haben bisher 21 Sera von gesunden und kranken Menschen in dieser Weise untersucht und hierbei stets Antitoxin gefunden, aber auch beträchtliche Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Sera constatirt[2]. Wir glauben indessen, bei der geringen Zahl der systematischen Krankenuntersuchungen, den bisher gefundenen Unterschieden — zumal auch Anfangs unsere Technik noch unvollkommen war — eine diagnostische Bedeutung vorläufig nicht beilegen zu dürfen. Nur eine an reichem Materiale sorgsam ausgeführte klinische Arbeit wird hierüber Auskunft geben können. Wir sind aber gerne bereit, zum Zwecke dieser Untersuchung Toxin und Standard-Antitoxin zur Verfügung zu stellen.

Und es scheint uns lohnend zu sein, der diagnostischen Bedeutung dieses Antistaphylolysingehaltes nachzugehen, da dieser Stoff doch augenscheinlich ein normaler Bestandtheil des menschlichen Blutes ist, der also wohl physiologischen und pathologischen Schwankungen unterworfen sein wird. Die oben angegebene Methode genügt aber in einfacher Weise für eine genaue Messung dieses eigenartigen Stoffes.

Die erste Frage ist natürlich, ob die Entstehung dieses Stoffes **immer**, also auch normaler Weise durch den Staphylococcus pyogenes bedingt ist, oder ob dieser Stoff auch in anderer Weise entstanden gedacht werden kann. Es sei hierbei nochmals auf den Aufsatz des einen von uns (N.) hingewiesen, in dem die Entstehung dieser normalen Stoffe — als Konsequenz der Ehrlich'schen Seitenkettenlehre — auch ohne Mitwirkung

---

[1] Ehrlich, *Die Werthbemessung d. Diphtherieheilserums.* Fischer, Jena 1897.

[2] In einer Lumbalflüssigkeit fanden wir neuerdings kein Antitoxin; in einem Stauungs-Ascites erheblich weniger, als in dem entsprechenden Serum.



des specifischen Toxins als möglich, häufig als wahrscheinlich angenommen wurde. Auch für das Antistaphylotoxin kann man sich leicht vorstellen, dass diejenige Gruppe der rothen Blutkörperchen, an welcher das Toxin angreift — denn auch das Menschenblutkörperchen ist ja, wie erwähnt, durch das Toxin auflösbar —, dass diese Gruppe also, der Receptor, schon normaler Weise frei im Serum kreist. Das würde ja aber dann nichts Anderes bedeuten, als dass eben Gift abfangende Gruppen, Antitoxin, im Blute vorhanden sind.

Es ist von vornherein nicht wahrscheinlich, dass das Antistaphylotoxin in jedem Menschen erst durch die Entwickelung von Staphylokokken entstanden sein soll, eine Frage, die sich durch Untersuchung von Kinder- und Säuglingsblut vielleicht entscheiden liesse. Wie dem aber auch sei, man wird jedenfalls von vornherein erwarten dürfen, dass bestehende oder überstandene Staphylokokkenprocesse eingreifenderer Natur in dem Antitoxingehalte zu irgend einem Ausdrucke kommen werden. Vielleicht wird es sogar auf diesem Wege möglich sein, die ätiologische Bedeutung der Staphylokokken, welche man bei manchen Processen so häufig gefunden hat (Rheumatismen, Ekzem, Pemphigus, Encephalitiden) klar zu stellen.

Das künstlich erzeugte Antistaphylolysin.

Durch Immunisiruug mit Staphylotoxin lässt sich ein Antistaphylolysin herstellen. Es genügt eine zwei- oder dreimalige subcutane Einverleibung eines wirksamen Toxins, um ein kräftiges Antitoxin zu erhalten. Nächst dem Kaninchen ist die Ziege ein brauchbares Versuchsthier. Aber stets muss man mit sehr kleinen Toxinmengen beginnen, wenn es nicht zu Marasmus und Tod kommen soll. Die Thiere bekommen schon nach kleinen Mengen, z. B. 0·2 ccm eines starken Giftes, Fieber und ein Infiltrat an der Stelle der Impfung, welches bis zu Thaler- oder Handtellergrösse anwachsen kann; dieses Infiltrat indurirt sich in wenigen Tagen, und es entsteht gewöhnlich localer Haarausfall, nicht selten eine circumscripte beträchtliche Hautnekrose. Wiederholt man die Injection an einer anderen Stelle, so erhält man daselbst dasselbe Bild, so dass wir gelegentlich Thiere hatten, welche mit indurirten Infiltraten wie mit einem Panzer bedeckt waren. Nicht allzu selten findet man Thiere, welche auf sehr kleine Dosen schon ausserordentlich stark reagiren und an Marasmus zu Grunde gehen, ohne Antikörper gebildet zu haben. Besonders vorsichtig muss man bei der Immunisirung von Ziegen vorgehen.

Ueber die nothwendige Dauer der Immunisirung lässt sich wenig Allgemeines angeben. Wir haben uns gewöhnlich nach der Gewichts-



kurve gerichtet und weiter immunisirt, nachdem die erste regelmässige Gewichtserniedrigung zum Stillstand oder Rückgang gekommen war. Da, wie erwähnt, im normalen Kaninchenserum nennenswerthe Mengen Antitoxin nicht vorhanden sind, so braucht man in diesem Punkte nicht mit individuellen Schwankungen zu rechnen. Wohl aber existiren starke individuelle Verschiedenheiten in der Höhe des künstlich erzeugbaren Antitoxins. So neutralisirte ein Antitoxin in der Menge von 0·01 ccm noch eine bestimmte Giftdose, während ein anderes unter denselben Bedingungen gewonnenes Antitoxin nur den fünften Theil so wirksam war.

Das künstlich erzeugte Antitoxin ist gegen Inactivirungstemperaturen ebenso resistent, wie das normale Antitoxin z. B. des Pferdes. Es lässt sich das Antitoxin auch unter Zusatz von 0·5 Procent Carbol conserviren.

Wir haben nun mit Toxinen, welche von verschiedenen Staphylokokkenstämmen stammten, immunisirt und stets ein Antitoxin erhalten, welches gegen sämmtliche Staphylokokkenlysine in gleicher Weise schützte. Und dies ist uns der Beweis für die Unität der von so verschiedenen Stämmen producirten Staphylolysine.

Es gelang uns indessen bei mehrfachen Versuchen nicht, durch Immunisirung mit inactivirtem Staphylolysin einen Antikörper hervorzurufen. Und ebenso wenig gelang die Hervorrufung eines Antikörpers mit den Filtraten von lysinfreien Albusstämmen. Wir schliessen daraus, dass weder das inactivirte Aureusfiltrat, noch das an sich lysinfreie Albusfiltrat das Toxinmolekül noch in irgend einer Form enthält.

Nächst der subcutanen Einverleibung käme für die Zwecke der Immunisirung noch die intravenöse Einspritzung in Betracht. Aber sie ist entschieden unzuverlässiger als die subcutane, und wir haben nur in einem Fall auf diesem Wege ein Antitoxin mässiger Stärke erhalten.

Mittels der intraperitonealen Einverleibung ist uns die Hervorrufung eines Antikörpers mehrfach nicht gelungen. Sollte sich diese Thatsache als Regel bestätigen, so wäre sie ein interessanter Beitrag zur Frage der Antitoxinentstehung.

Constitution des Staphylokokkenhämolysins.

Das von uns studirte Hämolysin liess zunächst an analoge Hämolysine denken, und zwar ein Mal an das von Ehrlich[1] entdeckte und in seiner Konstitution von Madsen so genau studirte Tetanolysin und ferner an die neuerdings so vielfach erforschten Hämolysine der Thiersera. Diese beiden Classen der Hämolysine unterscheiden sich bekanntlich dadurch,

[1] Sitzungsbericht u. s. w. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1898. Nr. 12.

dass die Hämolysine der Thiersera aus 2 Theilstücken bestehen, dem Zwischenkörper und dem Complement, deren Zusammenwirken erst die Auflösung der Blutkörperchen bedingt. War unser Hämolysin ein solcher „complexer", also aus 2 Theilstücken zusammengesetzter Körper, so musste nach Analogie mit den Serumhämolysinen eine Reactivirung des bei etwa 56° inactivirten Lysins möglich sein. Aber alle Versuche in dieser Richtung schlugen fehl. Es wurden verschiedene, an sich nicht lösende Sera, sowie Filtrate an sich nicht lösender Albusstämme oder anderer Bakterienarten zu einem inactivirten Staphylolysin zugesetzt, ohne das Reactivirung erreicht wurde. Und ebenso wenig Erfolg hatte die Zugabe von Staphylokokkenleibern oder von jungen, also noch nicht lösenden Aureusfiltraten.

Und schliesslich spricht der oben erwähnte fehlgeschlagene Versuch der Antitoxinerzeugung durch Immunisirung mit inactivirtem Staphylolysin direct gegen die complexe Natur unseres Lysins. Es hätte ja sonst der durch die Hitze nicht zerstörte „Zwischenkörper" ein Antitoxin entstehen lassen müssen.

So blieb nur die Analogie mit dem Tetanolysin übrig. Die Wirkung des Tetanolysins beruht aber — ebenso wie die des Diphtheriegiftes — auf der Anwesenheit zweier in demselben Molekül vereinigter Gruppen, die von Ehrlich[1] bekanntlich als haptophore und toxophore Gruppe bezeichnet worden sind. Die haptophore, im Allgemeinen stabilere, verankert das Giftmolekül an die Blutzelle, die toxophore, die labile, ist die eigentlich fermentative, auflösende Gruppe.

Die Constatirung der Anwesenheit beider Gruppen ist dann möglich, wenn es gelingt, Bedingungen zu finden, unter denen zwar eine Verankerung des Giftes an die Blutzelle, nicht aber deren Auflösung erfolgt.

Diesem Ehrlich'schen Gedankengange folgend, hat Morgenroth[2] für das Tetanospasmin, Madsen für das Tetanolysin die Existenz der haptophoren und toxophoren Gruppe erwiesen.

Wir haben für das Staphylolysin ebenfalls versucht, bei niedrigen Temperaturen nur die eine Gruppe zur Wirksamkeit gelangen zu lassen.

Lässt man nämlich ein Staphylolysin bei 0° einige Stunden auf Kaninchenerythrocyten einwirken, so ist aus der abcentrifugirten Flüssigkeit alles Staphylolysin verschwunden und an die Blutkörperchen verankert, und zwar so fest, dass es durch öfteres Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung und Centrifugiren diesen Blutkörperchen nicht mehr entrissen werden kann. Bringt man aber diese gewaschenen Blutkörperchen,

[1] A. a. O.

[2] *Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie.* 1900. T. VII. Hft. 3 u. 4.



in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, in den Thermostaten, so tritt sofort Lösung auf, weil eben die toxophore Gruppe bei 37° zu wirken vermag.

Durch diese Constitution reiht sich das Staphylolysin vollständig dem Diphtherietoxin und dem Tetanustoxin an.

Allerdings bietet die technische Ausführung dieses scheinbar einfachen Versuches nicht geringe Schwierigkeit. Setzt man nämlich Blutkörperchen verschiedener Kaninchen unter ganz gleichen Bedingungen bei 0° der Einwirkung desselben Staphylolysins aus, so findet man, dass manche Blutarten auch bei 0° gelöst werden, während andere ungelöst bleiben. Wir erklären uns das damit, dass bei 0° die Wirkung der toxophoren, auflösenden Gruppe nicht völlig aufgehoben, sondern nur stark in ihrer Wirksamkeit herabgesetzt zu sein braucht. Und diese, nunmehr so schwach wirksame toxophore Gruppe wird nur noch Blutkörperchen geringster Resistenz aufzulösen vermögen. Dass aber in jedem Blute Blutkörperchen verschiedener Resistenz vorhanden sind, haben wir ja bereits bei der Einstellung des Lo-Werthes erwähnt. Zu diesem Staphylolysinbindungsversuche bei 0° sind aber nur Blutarten zu gebrauchen, welche die erwähnten Blutkörperchen geringster Resistenz nicht besitzen, was experimentell festzustellen ist.

Die zweite technische Schwierigkeit besteht darin, dass schon bei kurzer Erwärmung über 0° Auflösung eintritt. Man muss deshalb womöglich bei etwa 0° centrifugiren können, oder aber wenigstens über eine schnell anlaufende und rasch eine hohe Tourenzahl erreichende Centrifuge verfügen. Dann aber lässt sich die Verankerung des Staphylolysins an die Blutkörperchen und die von einander unabhängige Wirkung der haptophoren und toxophoren Gruppe sehr deutlich zeigen.

Um die Analogie der Constitution des Staphylolysins mit der des Diphtherie- und des Tetanustoxins noch weiterhin zu verfolgen, war es nothwendig, die schwierige Toxoidfrage in Angriff zu nehmen, deren Grundzüge hier noch einmal dargelegt sein mögen.

Bekanntlich hat Ehrlich[1] für das Diphtheriegift eine eigenartige Curve der Neutralisation gefunden, die er bildlich in seinem Spectrum darstellte, und die ihn zu seiner Toxoidlehre führte. Ein ähnliches Spectrum hat dann Madsen[2] für das Tetanolysin, Myers[3] für das Schlangengift gefunden.

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898.

[2] Madsen, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.

[3] *Journ. of Pathol. and Bacteriolog.* Edinburgh-London 1900. Vol. VI. p. 415.



Die Fundamentalerscheinung ist in allen diesen Fällen die folgende:

Nimmt man eine bestimmte Menge eines dieser Toxine, so lässt sich leicht diejenige Menge des entsprechenden Antitoxins bestimmen, welche zur völligen Neutralisirung der gewählten Giftmenge eben erforderlich ist. Fügt man dieser Giftmenge nun z. B. nur den zehnten Theil der völlig neutralisirenden Antitoxinmenge hinzu, so müsste auch ein Zehntel der Giftmenge verschwunden sein, also $^9/_{10}$ übrig sein, analog wenn man $^2/_{10}$ Antitoxin zusetzt u. s. w.

Das ist nun eigenthümlicher Weise nicht der Fall. Vielmehr nimmt das zugefügte erste Zehntel Antitoxin eine Menge Gift weg, welche der Rechnung durchaus nicht entspricht. Und Ehrlich folgerte daraus, dass die einzelnen Zehntel des Giftes unter einander verschieden sind. Ein Mal ist die Avidität zum Antikörper verschieden, so dass der zugesetzte Antikörper sich nicht gleichmässig auf die haptophoren Gruppen des Giftes vertheilt, sondern zunächst an diejenigen geht, welche die stärkste Avidität haben (Prototoxin, dann Deuterotoxin und Tritotoxin). Diese drei Toxine sind durch die verschieden grosse Avidität ihrer haptophoren Gruppe zum Antikörper unterschieden. Ihnen schliesst sich ein weiterer Gifttheil an, dessen haptophore Gruppe noch weniger avid ist und dessen toxophore nun ebenfalls von der toxophoren Gruppe des eigentlichen Toxins verschieden ist. Diesen Gifttheil hat Ehrlich Toxon genannt. Das Toxon des Diptheriegiftes z. B. wirkt speciell lähmend, aber nicht acut nekrotisirend, oder acut tödtend, das Toxon des Tetanolysins wirkt lösend auf Kaninchenerythrocyten, vermag aber nur die weniger resistenten Blutkörperchen aufzulösen, so dass es auch durch grösste Mengen Toxon nie gelingt, eine völlige Auflösung aller Blutkörperchen herbeizuführen.

Wir werden sehen, dass wir auch beim Staphylolysin ein Toxon annehmen müssen.

Damit ist aber noch nicht Alles erklärt. Setzt man nämlich ein Toxin der Wärme oder anderen schädigenden Einflüssen vorsichtig aus, so kann man Folgendes erreichen:

Während der absolute Giftwerth stark gesunken ist, braucht man doch die gleiche Menge Antitoxin, wie zuvor, um völlige Neutralisation zu erreichen. Es müssen also unter dem Einflusse der Schädigung in dem Gifte Modificationen entstanden sein, welche zwar ungiftig sind, aber trotzdem in gleicher Weise wie das Gift Antitoxin binden. Die haptophore Gruppe ist also intact geblieben, aber die toxophore ist zum Theil in eine ungiftige Modification übergegangen. Diese Modification des Toxinmoleküls hat Ehrlich Toxoid genannt. Und es kann nun das Prototoxin (das avideste) in das Prototoxoid (gleiche Avidität, aber ungiftig) übergehen, und unabhängig davon das Deuterotoxin in das Deuterotoxoid u. s. w.



Tabelle XIV.

Partielle Absättigung eines 9tägigen Culturfiltrates von Stamm 11. Lc = 0·009 ccm. 0·05 ccm Toxin werden gerade complet neutralisirt durch 0·08 ccm Antitoxin. Das Toxin-Antitoxingemisch blieb 1 Stunde im Thermostaten.

Das Toxin-Antitoxin-Blutgemisch blieb 2 Stunden im Thermostaten und über Nacht im Eisschrank.

Menge des Toxin-Antitoxin-Gemisches in ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 0·19 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 0·38 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 0·58 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 0·77 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 0·96 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 1·44 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 1·92 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 2·4 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 2·88 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 3·36 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 3·84 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 4·8 ccm	Toxin = 6·0 ccm Antitoxin = 6·72 ccm
	2/100 Toxin abgesätt.	4/100 Toxin abgesätt.	6/100 Toxin abgesätt.	8/100 Toxin abgesätt.	10/100 Toxin abgesätt.	15/100 Toxin abgesätt.	20/100 Toxin abgesätt.	25/100 Toxin abgesätt.	30/100 Toxin abgesätt.	35/100 Toxin abgesätt.	40/100 Toxin abgesätt	50/100 Toxin abgesätt.	70/100 Toxin abgesätt
1·0	complet	complet	complet	complet	complet	complet	complet	complet	complet	incompl.	Complete Lösung wird auch durch 1·0 ccm des Toxin-Antitoxingemisches nicht mehr erzielt.	Ueberall nur Kuppe.	Ueberall nur Spur
0·9	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·8	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·7	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·6	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·5	”	”	”	”	”	”	”	”	”	roth			
0·4	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·3	”	”	”	”	”	”	”	”	incompl.	”			
0·2	”	”	”	”	”	”	”	incompl.	roth	”			
0·1	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·09	”	”	”	”	”	”	incompl.	roth	”	starke Kuppe			
0·08	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·07	”	”	”	”	”	”	”	”	starke Kuppe	”			
0·06	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”			
0·05	”	”	”	”	”	incompl.	roth	starke Kuppe	”	”			
0·04	”	”	”	”	”	”	starke Kuppe	”	”	”			
0·03	”	”	”	incompl.	incompl.	”	”	”	Kuppe	Kuppe			
0·02	incompl.	incompl.	incompl.	”	”	”	”	Kuppe	”	”			

Die vorstehende Tabelle wurde, um es nochmals zu recapituliren, in folgender Weise gewonnen:

Für eine bestimmte Menge Toxin wurde diejenige Menge Antitoxin bestimmt, welche nöthig war, um die Wirkung des Toxins völlig zu annulliren, also auf Lo zu reduciren. In eine Anzahl Röhrchen wurde nun diese Menge Toxin gegeben, welcher Bruchtheile der zur völligen Neutralisirung nöthigen Antitoxinmenge zugegeben wurden, und zwar derart,

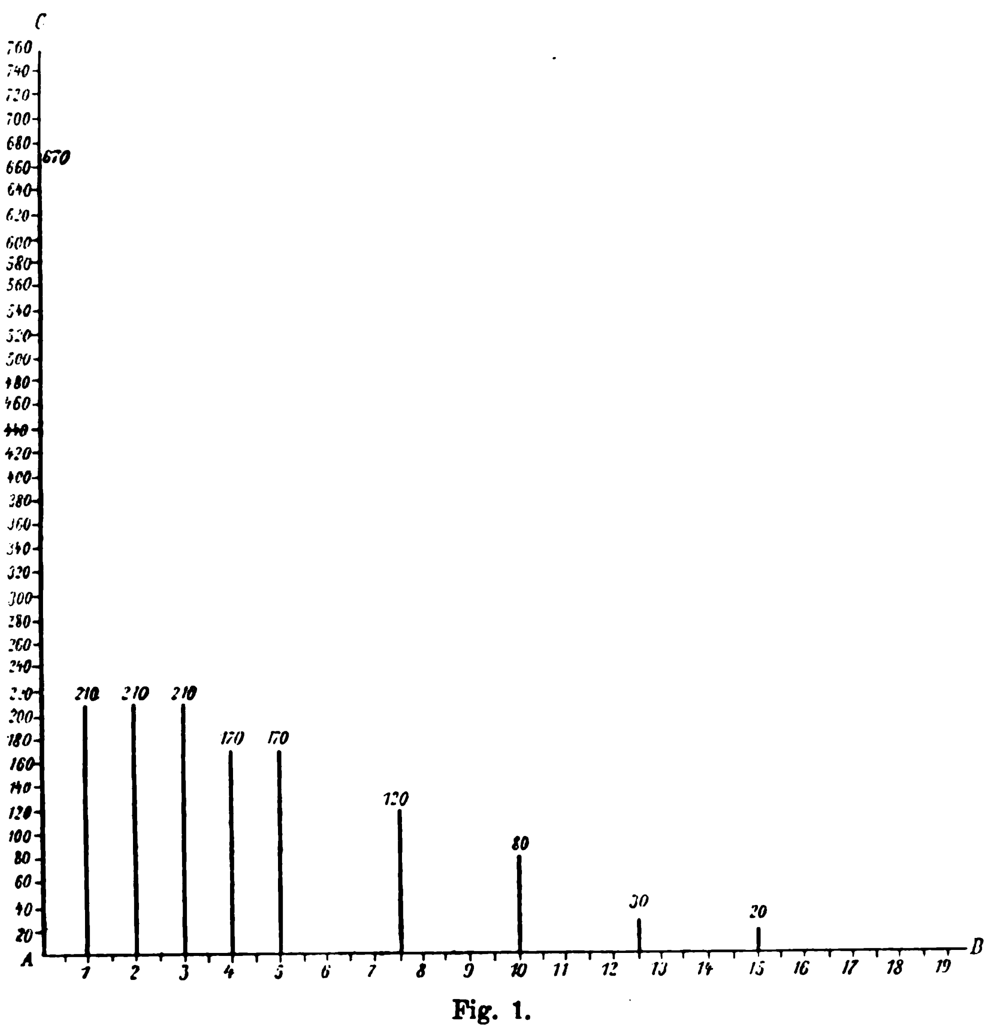


Fig. 1.

Die auf der Abscisse *AB* eingetragenen Theile bedeuten Fünfzigstel derjenigen Antitoxinmenge, welche zur völligen Neutralisirung der angewandten Toxinmenge nothwendig war. Für die verwendeten 6 ccm Toxin waren 9·6 ccm Antitoxin zur Neutralisirung auf Lo nöthig. Die auf der Ordinate *AC* eingetragenen Zahlen bedeuten die Anzahl der von dem Toxin-Antitoxin-Gemisch complet gelösten Tropfen Kaninchenblut (durch Umrechnung gefunden). — Da Lc = 0·009 ccm ist, so lösten die angewandten 6 ccm Toxin 666 Tropfen Kaninchenblut. — An den Enden der einzelnen Säulen ist noch einmal die Anzahl der gelösten Tropfen Blut angegeben.

dass die erste Probe Toxin ein Fünfzigstel der zur völligen Neutralisirung nöthigen Antitoxinmenge erhielt, die zweite zwei Fünfzigstel u. s. w. Diese Toxin- Antitoxinmengen kamen für eine Stunde in den Thermostaten. Hierauf wurden Serien von Röhrchen mit fallenden Mengen (in kleinen Intervallen) dieser Toxin-Antitoxinmischung beschickt und nach Zugabe eines Tropfens Kaninchenblut u. s. w. in der gewöhnlichen Weise untersucht. Es wurde so für jedes Toxin-Antitoxingemisch ein Lc-Werth[1] gefunden, der durch Umrechnung ergab, wie viel Lc-Dosen noch in der betreffenden Probe des Toxin-Antitoxingemisches frei vorhanden waren. Die Tabelle XIV zeigt die Resultate.

In der vorstehenden Fig. 1 sind die gefundenen Lösungswerthe, auf das Gesammtquantum des betreffenden Toxin-Antitoxingemisches berechnet, eingezeichnet, oder anders ausgedrückt, die Zahl der in den einzelnen Toxin-Antitoxingemischen noch vorhandenen Lc-Dosen. (Um Schwankungen, die innerhalb der Fehlergrenzen liegen, auszuschalten, sind in der Curve die Werthe entsprechend abgerundet.)

Es geht aus dieser Curve hervor, dass nach Zugabe eines Fünfzigstels der zur völligen Neutralisirung nöthigen Antitoxinmenge nicht nur ein Fünfzigstel der Lc-Dosen verschwunden ist; denn dann hätten von den ursprünglich vorhandenen 670 Lc-Dosen noch 647 vorhanden sein müssen, es sind aber nur 210 vorhanden. — Giebt man ein weiteres Fünfzigstel Antitoxin hinzu, so ist auffallender Weise die Menge der dann vorhandenen Lc-Dosen nicht verringert, ja man kann noch ein weiteres Fünfzigstel Antitoxin hinzufügen, ohne die Zahl der Lc-Dosen zu verringern. Erst Zusatz eines weiteren Fünfzigstel Antitoxin bedingt Abnahme der Lc-Dosen, welche dann nach Zusatz des nächsten Fünfzigstels wieder unverändert bleiben u. s. w.

Nach Zugabe von im Ganzen 15 Fünfzigsteln des zur völligen Neutralisirung nöthigen Antitoxins sind in den Toxin-Antitoxingemischen complet lösende Dosen überhaupt nicht mehr nachweisbar, selbst viele Cubikcentimeter eines derartig abgesättigten Toxins vermögen keine complete Lösung eines ganzen Tropfens Kaninchenblut mehr hervorzurufen. Diese Thatsache steht in völligem Widerspruche mit den Erfahrungen des Toxins. Wir müssen deshalb annehmen, zumal nach Analogie mit dem Diphtherie- und Tetanustoxin, dass dieser zuletzt abgesättigte Gifttheil ein andersartiges Gift darstellt, als das eigentliche Toxin, ein Gift nämlich, welches nur noch verhältnissmässig empfindliche Kaninchenerythrocyten aufzulösen vermag.

[1] Lc (hier als Gifteinheit angenommen) bedeutet, um es zu wiederholen, diejenige Toxinmenge, welche zur completen Lösung von 1 Tropfen Kaninchenblut erforderlich war.



ohne das Gros der Erythrocyten normaler Resistenz zur Lösung bringen zu können; dieser Theil des Giftes ist demnach nach **Ehrlich** als Toxon aufzufassen.

Berechnet man nun die Differenz zwischen den auf der ersten Curve eingetragenen Lc-Werthen zweier auf einander folgender Toxin-

Fig. 2.

Antitoxingemische, so erhält man Zahlen, welche angeben, welche Lc-Mengen durch die weitere Zugabe gleicher Antitoxinmengen abgesättigt worden sind. Diese durch die einzelnen Antitoxinmengen abgesättigten Lc-Werthe geben uns dann diejenigen Lc-Mengen an, welche in diesem

Theile des Giftes vorhanden waren. Und zeichnen wir uns diese Werthe curvenmässig ein, so zeigt uns die Curve in directer Weise, wie die einzelnen Lc-Werthe in den verschiedenen Parthieen des Giftes vertheilt sind. Diese Curve wird uns also die Lösungswerthe des in gleiche Theile zerlegten Giftes angeben (Fig. 2).

Die Betrachtung der Curve 2 lehrt nun, dass die Lösungswerthe der einzelnen Gifttheile ausserordentlich verschieden sind. Den weitaus grössten Lösungseffect hat derjenige Theil des Giftes, welcher bei der Absättigung zuerst von dem Antitoxin besetzt wird, also dasjenige Gift, welches wegen seiner grössten Avidität zum Antikörper als Prototoxin anzusprechen ist.

Was bei weiterer Zugabe von Antitoxin abgesättigt wird, sind Theile des Giftes, deren Avidität zum Antikörper etwas geringer sein muss als die des Prototoxins. Der Lösungseffect dieser Theile ist eigenthümlicher Weise gleich Null; es sind also gleichsam „blinde", d. h. ungiftige Gifte abgesättigt worden. Diese Theile müssen wir deshalb als Prototoxoid auffassen.

Es folgt bei weiterer Absättigung wieder ein „giftiger" Gifttheil, dessen Avidität zum Antikörper noch geringer als die des Prototoxoides ist. Der Lösungseffect dieser Theile ist ein mässig grosser. Auf dieses Deuterotoxin folgt abermals eine Toxoidzone, das Deuterotoxoid, dann das wenig starke Tritotoxin, und schliesslich eine lange Zone jenes Gifttheiles, der überhaupt über ein Lc nicht mehr verfügt, weil von ihm nur noch die empfindlichsten Erythrocyten gelöst werden, die Toxonzone.

Aus der Feststellung dieser Absättigungsverhältnisse erhellt die völlig analoge Constitution des Staphylolysins im Vergleich mit der des Diphtherie- und des Tetanustoxins. Auch diese Gifte stellen ja Gemische von Giften verschiedener Avidität (Proto-, Deutero-, Tritotoxin) dar und besitzen ebenfalls eine lange Toxonzone. Und ebenfalls zeigen diese Gifte den spontanen Zerfall in Toxoide. Nur in einer Beziehung unterscheidet sich unser Gift von den erwähnten beiden anderen. Während nämlich beim Dipththerie- und Tetanustoxin die Toxoide die gleiche Avidität haben, wie die entsprechenden Toxine (Prototoxoid ebenso avide wie Prototoxin u. s. w.), erleidet augenscheinlich die Avidität der Staphylotoxine durch ihre Umwandlung in Toxoid ebenfalls eine Abschwächung, so dass also das Prototoxoid schwächer avide als das Prototoxin ist, das Deuterotoxoid weniger avide als das Deuterotoxin u. s. w.

Diese Unterbrechungen, welche unser Spectrum im Gegensatz zu denen des Diphtherietoxins, des Tetanustoxins und des Schlangengiftes zeigt, sind von grosser Wichtigkeit für die Deutung dieser eigenthümlichen Neutralisationscurven.



II. Das Leukocidin.

Van de Velde[1] hatte gelegentlich seiner Studien über den Mechanismus des Staphylococcus pyogenes über ein Secretionsproduct dieses Mikroorganismus berichtet, dem die Eigenschaft zukommt, Leukocyten in bestimmter Weise schädigend zu beeinflussen. Er fand nach der Injection einer Staphylokokkencultur in die Pleurahöhle eines Kaninchens ein Exsudat, das anfangs reich an Leukocyten war, die auf dem geheizten Objecttisch untersucht, alle Charakteristica des Lebens dieser Zellen darboten. Untersucht man aber das Exsudat 6 bis 10 Stunden nach der Injection, so sind sämmtliche Leukocyten des Exsudates todt und in charakteristischer Weise verändert. Fügt man einem solchen Exsudate lebende weisse Blutkörperchen zu, so sieht man, wie sich auch diese verändern und schliesslich dieselben Zeichen des Unterganges darbieten, wie die ursprünglich in demselben vorhandenen. Erhitzt man jedoch dieses Exsudat durch 10 Minuten auf 58°, so behalten die nachträglich zugesetzten weissen Blutkörperchen ihre Lebensfähigkeit. Daraus schloss van de Velde, dass sich in dem Exsudate eine Substanz befindet, die wenig hitzebeständig ist und weisse Blutkörperchen abtödtet. Diese Substanz nannte er das Leukocidin und fasste sie als ein Secretionsproduct der Staphylokokken auf, das sich ebenso wie im Exsudate nach van de Velde's Untersuchungen in der im Serum oder Bouillon angelegten Cultur nachweisen lässt. Wie bereits in dem Abschnitte unserer Arbeit über das Hämolysin des Staphylokokkentoxins erwähnt wurde, beschrieb van de Velde ähnliche deletäre Wirkungen durch das Leukocidin auch an Haematoblasten, Ganglienzellen des Sympathicus und anderen Zellen. —

Die Einwirkungen des Leukocidins auf die weissen Blutkörperchen, die uns hier ausschliesslich interessiren, äussern sich in folgender Weise:

1. Die Leukocyten ziehen ihre Pseudopodien ein und werden rund.

2. Eine helle Zone erscheint in ihrer Peripherie, während das Centrum granulirt wird.

3. Die helle Zone erreicht das Centrum, die Granulationen verschwinden allmählich vollständig.

4. Die weissen Blutkörperchen werden zu einer leeren Blase mit deutlich sichtbarem Kerne, der später auch noch verschwindet.

Diese Erscheinungen der Degeneration laufen in der Zeit von 2 Minuten ab.

[1] Van de Velde, Étude sur le mécanisme de virulence du staphylocoque pyogène. *La cellule.* T. X. Fasc. 2.



Van de Velde berichtet ferner, dass avirulente und virulente Staphylokokken dieses Gift, das Leukocidin, in den Nährböden in gleicher Menge produciren; im Thierkörper bestehe eine stärkere Production von Seiten der virulenten Kokken, die jedoch nur darauf zurückzuführen sei, dass die avirulenten Bakterien den baktericiden Kräften des Serums erliegen, bevor es zur Production des Leukocidins gekommen ist.

Bail[1] und v. Lingelsheim[2] bestätigten später in Nachuntersuchungen im Wesentlichen die Befunde van de Velde's.

Herstellung und Conservirung der Filtrate.

Zur Prüfung auf ihre leukociden Fähigkeiten gelangten dieselben Filtrate, über deren hämolytische Eigenschaft für Kaninchenblutkörperchen wir bereits berichtet haben, und wir verweisen deshalb bezüglich der Herstellung der Filtrate und ihrer Conservirung auf den diesbezüglichen Abschnitt in den Untersuchungen über das Hämolysin des Staphylotoxins.

Gewinnung der Leukocyten.

Die Leukocyten erhielten wir durch Injection von Aleuronat in die Pleurahöhle von Kaninchen. Zur Injection gelangte eine ziemlich dichte Aufschwemmung von Pflanzencaseïn (E. Merck, Darmstadt) in 0·85 proc. Kochsalzlösung, etwa 3.0 ^{grm} Pflanzencaseïn auf 40·0 ^{grm} Kochsalzlösung Die Injectionen wurden mit einer Spritze mit stumpfer Canüle in die rechte Pleurahöhle vorgenommen, wobei, soweit als dies möglich ist, die Verletzung von Gefässen, namentlich der Intercostalarterien, vermieden wurde, um die Beimengung von rothen Blutkörperchen zum Exsudate nach Thunlichkeit zu vermeiden. Blutige Exsudate wurden nicht verwendet.

Die Menge der injicirten Aleuronatsuspension schwankte zwischen 7 bis 12 ^{ccm}, je nach der Grösse des Versuchsthieres. 24 Stunden nach der Injection wurden die Thiere entblutet, und das Exsudat nach Eröffnung der Pleurahöhle steril mit der Pipette entnommen.

Um die Gerinnung des Exsudates im Reagensglase zu vermeiden, wurde dasselbe zu gleichen Theilen mit einer 1 proc. Lösung von oxalsaurem Natrium versetzt. Die mikroskopische Beobachtung auf dem erwärmten Objecttisch hatte uns den Beweis erbracht, dass dieser Zusatz

[1] Ueber leukocide Substanzen in den Stoffwechselproducten von Staphylococcus pyogenes aureus. *Diese Zeitschrift*, Bd. XXX und *Archiv für Hygiene*, Bd. XXXII.

[2] A. a. O.



von oxalsaurem Natrium die Leukocyten nicht im Geringsten schädigt, dass sie in gleicher Weise wie in der Controle ohne Zusatz von oxalsaurem Natrium ihre amoeboiden Bewegungen und die übrigen Charakteristica des intacten Lebens erkennen lassen.

Wir gingen nun zunächst daran, die schädigenden Wirkungen des Leukocidins auf die weissen Blutkörperchen in derselben Weise zu studiren, wie es bisher üblich war, und wie es auch van de Velde gethan hatte, nämlich auf dem geheizten Objecttisch im hängenden Tropfen. Dabei konnten wir die Angaben van de Velde's bezüglich der Qualität der durch das Leukocidin hervorgerufenen Veränderungen der weissen Blutkörperchen in vollem Umfange bestätigen. Bei stärkeren Concentrationen des Filtrates laufen die Erscheinungen der Degeneration, wie es van de Velde angegeben hatte, in sehr kurzer Zeit ab, bei weiter fortschreitender Verdünnung des Toxins oder bei an sich auch in starker Concentration nur schwach leukocid wirkenden Giften stellen sich die Verhältnisse wesentlich anders dar. Solche starke Verdünnungen sind aber unbedingt nöthig, sobald es sich nicht nur um qualitative, sondern auch um quantitative Bestimmungen handelt, um z. B. den Grenzwerth zu bestimmen, bei welchem ein bestimmtes Toxin noch leukocide Eigenschaften zeigt. Verdünnungen des Toxins, die, wie van de Velde es angegeben hatte, nach 10 Minuten, ja nach einer halben Stunde noch keine Schädigungen der Leukocyten erkennen liessen, wurden von ihm als Grenzwerth angenommen. Untersucht man aber dieselben Leukocyten nach einer, ja nach $1^1/_2$ Stunden, so zeigen sie selbst bei diesen Verdünnungen des Toxins noch deutlich die Degenerationserscheinungen, während in Controlpräparaten die Leukocyten noch intact sind. Die Angabe des Grenzwerthes des Toxins nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung auf Leukocyten wäre demnach eine fehlerhafte gewesen.

Dadurch war zur Bestimmung der Werthigkeit eines Staphylokokkenfiltrates bezüglich seiner leukociden Fähigkeiten die Nothwendigkeit einer längeren mikroskopischen Beobachtung gegeben. Eine solche stösst jedoch auf gewisse Schwierigkeiten. Abgesehen von der äusserst ermüdenden Beobachtung mit der Oelimmersion durch viele Stunden war auch die Zahl der an einem Tage ausführbaren Versuche auf ein Minimum reducirt.

Ein weiterer Uebelstand der mikroskopischen Beobachtung, wie sie van de Velde und die Anderen geübt hatten, liegt darin, dass man den Zellreichthum der verschiedenen Exsudate, der bisweilen zwischen ganz bedeutenden Grenzen schwankt, vollständig vernachlässigt hatte. Es müsste daher einer jeden derartigen Untersuchung eine Bestimmung der weissen Blutkörperchen durch Zählung vorausgehen, um vergleichbare

Resultate zu erreichen. Ferner sieht man oft in den Exsudaten, namentlich wenn man mit schwächer wirksamen Toxinen arbeitet, nur einen Theil der Zellen, die für die Leukocidinwirkung charakteristischen Veränderungen zeigen, während andere noch ziemlich intact sind. Es müsste also erst eine neuerliche Zählung das Verhältniss der intacten zu den nicht intacten Leukocyten klarstellen, um verwerthbare Untersuchungsresultate zu erhalten. Alle diese Uebelstände schaffen aber neue Fehlerquellen, die nur durch weitere zeitraubende Untersuchungen ausgeschieden werden können.

Methode der Leukocidin-Untersuchung.
(Bioskopische Methode).

Wir versuchten es daher, eine Methode ausfindig zu machen, die, wenn möglich, die mikroskopische Beobachtung durch die makroskopische ersetzt und andererseits durch ihre Einfachheit die Anstellung grösserer Versuchsreihen an einem Tage ermöglicht. Wir[1] haben über diese Methode, die sich uns auch für eine Reihe anderer Untersuchungen als brauchbar erwiesen hat, bereits in Kürze berichtet. Wir wollen daher an dieser Stelle auf dieselbe nur insoweit eingehen, als es für die in Rede stehenden Untersuchungen nöthig ist. Wir gingen bei der Auffindung dieser, der bioskopischen Methode, anknüpfend an die von Ehrlich in seinem „Sauerstoffbedürfniss des Organismus" niedergelegten Befunde, von der Erwägung aus, dass die Leukocyten als lebende Zellen eines gewissen Quantums von Sauerstoff bedürfen, den sie ihrer Umgebung entnehmen.

Bringen wir also in die Flüssigkeit, in der die Leucocyten suspendirt sind, einen Farbstoff, der leicht reducirbar ist und dessen Reductionsstufe sich von dem nicht reducirten durch die Farbe unterscheidet, so wäre es auf diese Weise möglich, aus dem Auftreten der Reduction auf die Anwesenheit lebender Leukocyten zu schliessen. Diese Ueberlegung zeigte sich als vollkommen begründet.

Unter allen diesbezüglich untersuchten Farbstoffen hat sich uns das Methylenblau als am besten geeignet erwiesen, da es verhältnissmässig leicht zur Leukobase reducirbar ist. Allerdings bietet das Methylenblau den Nachtheil der Verküpung (Reoxydation), ein Uebelstand, dem man dadurch begegnen kann, dass man die Möglichkeit des Zutrittes von athmosphärischer Luft verhindert. Ueberschichtung mit Paraffinum liquidum bewirkt das für unsere Zwecke in ausreichendem Maasse.

---

[1] M. Neisser u. F. Wechsberg, Ueber eine neue einfache Methode zur Beobachtung von Schädigungen lebender Zellen und Organismen (Bioskopie). *Münchener med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 37.



Bringt man also in ein Röhrchen von etwa 7 mm lichtem Durchmesser $^1/_2$ ccm eines zu gleichen Theilen mit einer 1 procentigen Lösung von oxalsaurem Natrium verdünnten Aleuronatexsudates, füllt dann mit 0·85 Proc. Kochsalzlösung bis zu 2 ccm Gesammtflüssigkeitsvolumen auf, setzt 2 Tropfen unserer Methylenblaulösung zu, deren Zusammensetzung wir weiter unten geben, und überschichtet mit Paraffinum liquidum, so erscheint die blau gefärbte Flüssigkeit nach 2 stündigem Verweilen im Thermostaten in der unteren Hälfte des Röhrchens weiss.

Wir haben für unsere Versuche stets an dem gleichen Flüssigkeitsniveau festgehalten, um die Bedingungen für die Reduction möglichst gleich zu gestalten. Die Menge von 2 ccm ist etwas Conventionelles und wurde aus Zweckmässigkeitsgründen gewählt.

Centrifugirt man aber aus dem Exsudate die Leukocyten aus, und stellt den gleichen Versuch mit der leukocytenfreien Flüssigkeit an, so tritt keine Reduction auf. Ebenso unterbleibt dieselbe, wenn man die Leukocyten im Exsudate durch Erhitzen oder durch Zusatz von Chinin, Alkohol, Sublimat u. s. w. abgetödtet bezw. gelähmt hat. — Damit ist der Beweis erbracht, dass die Reduction abhängig ist von der Anwesenheit von Leukocyten und zwar von lebenden Leukocyten. Würde nach dem Zusatze von Chinin trotzdem noch Reduction eintreten, so müssten wir daraus auf eine eventuelle bakterielle Verunreinigung schliessen, da, wie wir in der bereits citirten Arbeit berichtet haben, auch Bakterien in lebendem Zustande die Kraft der Reduction zukommt.

Aus dem eben Gesagten lässt sich auch ungefähr ersehen, welche Controlversuche stets nöthig sind, um einwandfreie Resultate zu erzielen; man muss speciell an bakterielle Verunreinigung denken und diesen Einwand durch geeignete Controlversuche ausschliessen.

Natürlich wird nicht die Anwesenheit eines einzelnen weissen Blutkörperchens genügen, um wahrnehmbare Reduction des Farbstoffes hervorzurufen, sondern stets erst eine beträchtliche Anzahl. Daraus folgt, dass diejenige Menge eines Exsudates, die noch deutliche Reductionserscheinungen zu erzeugen vermag, ceteris paribus abhängig sein wird von der Zahl der in der Volumseinheit vorhandenen weissen Blutkörperchen. — Ein zellreiches Exsudat, das in der Volumseinheit mehr reducirende Einzelindividuen enthält, wird, gleiche Vitalität der Zellen natürlich vorausgesetzt, schon in geringerer Menge uns einen sichtbaren Ausschlag (Reduction des Methylenblau) geben, als ein zellarmes.

Diese Erwägung ist deshalb von Wichtigkeit, weil sie bei der Werthbestimmung des Leukocidins in Frage kommen muss. Nehmen wir z. B. an, dass $^1/_2$ ccm eines in der angegebenen Weise verdünnten Aleuronatexsudates durch eine bestimmte Menge *a* eines Staphylotoxins

soweit abgetödtet wird, dass der noch übrig bleibende Theil der Leukocyten an Zahl schon zu gering ist, um noch deutliche Reduction hervorzurufen, so wird bei einem anderen Exsudate, das etwa doppelt so zellreich ist, wie das erste, die gleiche Menge Toxin die Reduction nicht verhindern können. Es wird nach Abtödtung der gleichen Anzahl von von Leukocyten noch immer eine genügende Menge weisser Blutkörperchen übrig sein, um Reduction hervorzurufen.

Aus diesen Betrachtungen ergiebt sich als nothwendige Consequenz, dass jeder derartigen Untersuchung eine solche über den Zellreichthum der Exsudate vorausgehen muss. Diese Untersuchung ist leicht in der Weise ausführbar, dass man abfallende Mengen des Exsudates, die alle zu der Gesammtflüssigkeitsmenge von 2 ^{ccm} aufgefüllt werden, mit Methylenblau versetzt, und so die kleinste Exsudatmenge bestimmt, welche noch Reduction hervorzurufen im Stande ist. Wir bezeichnen diesen Grenzwerth als Dosis minima reducens oder Lr = Limes reducens. Nur auf diese Weise lässt sich die Fehlerquelle, die aus dem verschiedenen Zellreichthume der Exsudate stammt, vermeiden, und nur so lassen sich vergleichbare Werthe für die leukocide Kraft, sei es desselben Toxins an verschiedenen Tagen, sei es verschiedener Toxine unter einander, aufstellen.

Wir haben bereits erwähnt, dass Leukocyten verhältnissmässig langsam reduciren, bedeutend langsamer z. B. als viele Bakterien, dass man also deshalb eine bestimmte Zeit wird warten müssen, um das Maximum der Reduction zu erhalten. Dasselbe wird, wie wir aus entsprechenden Versuchsreihen ersehen, nach 2 Stunden erreicht. Im Allgemeinen wird diejenige Exsudatmenge, die nach 2 Stunden noch keine sichtbare Reduction hervorgerufen hat, es auch nach dieser Zeit nicht mehr thun. Daraus folgt, dass zwischen dem Zusatze des Indicators für die Reduction (Methylenblau) und dem Ablesen des Reductionsresultates die Zeit von 2 Stunden verstreichen muss.

Hätten wir also ein Culturfiltrat auf seine leukocide Kraft zu prüfen, so wäre die Versuchsanordnung folgende:

1. Bestimmung der Dosis minima reducens, indem wir zu abfallenden Mengen von Leukocyten Methylenblau zusetzen. Nach einer Beobachtung von 2 Stunden, während welcher Zeit die Leukocyten im Thermostaten waren, ersehen wir, welche Exsudatmenge noch reducirt. Dieser Versuch wird ergeben, dass noch die Menge von 0·25 ^{ccm} des verdünnten Aleuronatexsudates deutlich Reduction hervorzurufen vermag. Lr ist also = 0·25 ^{ccm}. Auf diesen Vorversuch folgt

2. der eigentliche Versuch bezüglich der leukociden Kraft des zu untersuchenden Toxins. Wir nehmen zumeist die doppelte Lr-Dose, in unserem Falle also 0·5 ^{ccm} der verdünnten Aleuronatflüssigkeit, und fügen



nun abfallende Mengen des Toxins hinzu, füllen in allen Röhrchen mit 0·85 Procent Kochsalzlösung auf das Gesammtflüssigkeitsvolumen von 2 ccm auf und überlassen die Leukocyten durch $1^1/_2$ Stunden der Einwirkung des Toxins im Thermostaten. Nach dieser Zeit setzen wir zu jedem Röhrchen 2 Tropfen unserer Methylenblaulösung zu, überschichten mit Paraffin, stellen die Röhrchen neuerdings in den Thermostaten und notiren den Reductionsbefund nach 2 Stunden.

Es sei nur kurz erwähnt, dass das sich bildende Leukocytensediment eine gleiche Differenz der Farbe zeigt, wie die darüber befindliche Flüssigkeit. Sind die Leukocyten abgetödtet, so färben sie sich blau, leben sie, so bleiben sie weiss. Zwischen diesen beiden Extremen finden sich fliessende Uebergänge.

Wir haben uns bei der Beurtheilung, ob die Leukocyten noch leben oder nicht, stets nur nach der Farbe der Flüssigkeit gerichtet, da hier die Grenzen sich schärfer ausprägen, und werden in den Tabellen auch nur den Reductionsbefund der Flüssigkeit angeben, trotzdem wir in unseren Protocollen stets auch die Farbe des Sedimentes notirten.

Es bedarf wohl nicht der Erwähnung, dass wir zu Beginn, bevor die Methode in ihrer Brauchbarkeit genügend erwiesen schien, unsere Befunde durch die mikroskopische Beobachtung controlirten, und erst später, als wir uns von ihrer Verlässlichkeit überzeugt hatten, von der mikroskopischen Beobachtung völlig absahen.

Die Zusammensetzung der Methylenblaulösung ist folgende:

Methylenblau	1·0
Alkohol. absolut.	20·0
Aqua dest.	29·0

Diese Lösung wurde als Stammlösung verwendet, und für den jedesmaligen Gebrauch 1 ccm derselben mit 49 ccm 0·85 procentiger Kochsalzlösung verdünnt, und von dieser Verdünnung wurden 2 Tropfen zugesetzt. — Während die Stammlösung sich in Folge ihres hohen Alkoholgehaltes lange keimfrei erhält, ist die eigentliche Gebrauchslösung oft zu erneuern. Lösungen, in denen sich im Laufe der Zeit Niederschläge gebildet haben, sind nicht zu verwenden.

Nach Erörterung dieser technischen Fragen wollen wir zu unseren Untersuchungen über die leukocide Wirkung der Culturfiltrate von Staphylococcus aureus und albus übergehen.

Wir haben bereits eingangs erwähnt, dass die qualitativen Veränderungen, die das Leukocidin an den weissen Blutkörperchen hervorruft, von uns genau ebenso beobachtet wurden, wie von van de Velde, dass wir also diesbezüglich vollständig dessen Befunde bestätigen können.



Nach welcher Zeit erreicht die Leukocidinwirkung ihren Höhepunkt?

Van de Velde hatte angegeben, dass die Leukocidineinwirkung sich sehr rasch vollzieht. Wir haben oben erwähnt, dass dies für stark wirksame Gifte wohl seine Gültigkeit hat, dass dies jedoch bei schwach wirksamen Giften oder bei stärkeren Verdünnungen eines stark wirksamen nicht zutrifft. Die folgende Tabelle XV giebt uns ein Beispiel dafür.

Tabelle XV.
Verschieden lange Einwirkung des Toxins auf Leukocyten.
Lr = 0·25 ccm des zu gleichen Theilen mit 1 procentiger oxalsaurer Natriumlösung verdünnten Exsudates.

Exsudatmenge ccm	Toxinmenge ccm	Reduction nach $^1/_2$stündiger Toxinwirkung	Reduction nach 1 stündiger Toxinwirkung	Reduction nach $1^1/_2$stündiger Toxinwirkung	Reduction nach 3stündiger Toxinwirkung
0·5	1·0	0	0	0	0
0·5	0·75	0	0	0	0
0·5	0·5	spurweise	0	0	0
0·5	0·25	spurweise	0	0	0
0·5	0·1	+	0	0	0
0·5	0·075	+	0	0	0
0·5	0·05	+	0	0	0
0·5	0·025	+	+	0	0
0·5	0·01	+	+	+	+
0·5	0·0075	+	+	+	+
Controle 0·5 ccm	1·0 ccm inact. Toxin	+	+	+	+

Einwirkung des Toxins auf die Leukocyten $^1/_2$, 1, $1^1/_2$ und 3 Stunden. Dann Zusatz von 2 Tropfen der Methylenblaulösung. — Nach weiteren 2 Stunden den Befund der Reduction notirt. — Alle Röhrchen wurden auf 2 ccm Gesammtflüssigkeits-Volumen aufgefüllt. — 0 bedeutet keine Reduction, also todte Leukocyten. + bedeutet complete Reduction, also lebende Leukocyten.

Aus diesem Versuche folgt, dass dasselbe Toxin nach $^1/_2$ stündiger Einwirkung nur in einer Menge von 0·75 ccm die Leukocyten in $^1/_2$ ccm unseres verdünnten Aleuronatexsudates complet abzutödten vermag, nach 1 stündiger Einwirkung bereits in der Menge von 0·05 ccm, nach $1^1/_2$ stündiger Einwirkung in einer solchen von 0·025 ccm, dass ferner nach längerer Einwirkung (3 Stunden) eine weitere Steigerung der leukociden Wirkung des Toxins nicht nachweisbar ist. Daraus ergiebt sich, dass zur Bestimmung des Grenzwerthes der leukociden Kraft eines Staphylotoxins eine Beobachtungsdauer von mindestens $1^1/_2$ Stunden nöthig ist.



Abschwächung des Leukocidins.

Zur Conservirung unserer Filtrate benutzten wir Carbol, wie dies bereits bei unseren Untersuchungen über die hämolytische Wirkung des Staphylotoxins erwähnt wurde. Während auf solche Weise conservirte Filtrate ihre hämolytische Wirkung durch verhältnissmässig lange Zeit beibehalten, schwächt sich die leukocide Wirkung ziemlich bald ab, um schliesslich ganz zu verschwinden. Als Beispiel diene hierfür die Einstellung eines Toxins, wie sie in nachfolgender Tabelle wiedergegeben ist (Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Spontane Abschwächung eines conservirten Leukocidins.

Lr = 0·25 ccm Aleuronat-Exsudat.

Exsudatmenge ccm	Toxinmenge ccm	Einstellung am 10. IX. 1900 Reduction	Einstellung am 21. IX. 1900 Reduction	Einstellung am 26. IX. 1900 Reduction
0·5	1·0	0	0	0
0·5	0·75	0	0	0
0·5	0·5	0	0	0
0·5	0·25	0	0	0
0·5	0·1	0	0	spurweise
0·5	0·075	0	0	spurweise
0·5	0·05	0	0	+
0·5	0·025	0	0	+
0·5	0·01	0	+	+
0·5	0·0075	0	+	+
0·5	0·005	spurweise	+	+
0·5	0·0025	+	+	+

$1^1/_2$ stündige Einwirkung des Toxins auf die Leukocyten, dann Zusatz von Methylenblau (2 Tropfen). — Nach weiteren 2 Stunden den Stand der Reduction notirt.

Während das ursprüngliche Toxin in der Menge von 0·0075 ccm die Leukocyten in $^1/_2$ ccm verdünnten Aleuronatexsudates complet abtödtet, wurde nach 11 Tagen dieselbe Wirkung nurmehr durch 0·025 ccm, nach weiteren 5 Tagen durch 0·25 ccm hervorgerufen, während welcher Zeit die carbolisirten Toxine im Eisschranke aufbewahrt worden waren. Ein anderes Toxin vermochte nach 15 Tagen die gleiche leukocide Wirkung nurmehr in der Menge von 0.5 ccm auszuüben, die es vorher in der Menge von 0·0075 ccm hervorgerufen hatte. Bei länger dauernder Aufbewahrung verloren manche Filtrate ihre leukocide Kraft endlich vollständig, während in der gleichen Zeit das Hämolysin des Staphylotoxins sich auf derselben Höhe erhalten hatte. — Ob es sich bei dieser Abschwächung des Leukocidins um einen vollständigen Giftzerfall oder einen Uebergang in die ungiftige Modification, das Toxoid, handelt, können wir nicht entscheiden.



Wann tritt das Leukocidin in Bouillonculturen auf?

In gleicher Weise, wie für das Hämolysin suchten wir auch für das Leukocidin des Staphylotoxins den Tag seiner Bildung in Bouillonculturen zu bestimmen. Wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, war in 2 tägigen Culturfiltraten Leukocidin mittels der bioskopischen Methode noch nicht sicher nachweisbar. Ein 4 tägiges Culturfiltrat desselben Stammes war in der Menge von 0·5 ccm, ein 8 tägiges in der Menge von 0·025 ccm für die Leukocyten eines $^1/_2$ ccm des verdünnten Aleuronatexsudates leucocid. Bemerkt sei, dass der Mangel eines Auftretens von Reduction bei Zusatz von 1 ccm des 2 tägigen Culturfiltrates nicht absolut beweisend für die Anwesenheit von Leukocidin spricht, da es nicht auszuschliessen ist, dass der in dieser Menge Filtrat enthaltene Carbolzusatz oder aber die Salzconcentration, die Alkalität oder dergleichen die Leukocyten so weit schädigt, dass sie das Methylenblau nicht zu reduciren vermögen. Aus der folgenden Tabelle geht des Weiteren hervor, dass nach dem 8. Tage eine nennenswerthe weitere Zunahme an Leukocidin nicht erfolgt war, da das 16 tägige Culturfiltrat ebenso wie das 8 tägige seinen Grenzwerth (L_+) bei 0.025 ccm hatte. — Aus diesen Versuchen folgt, dass die Leukocidin-Production bereits am 4. Tage deutlich ausgesprochen ist und stetig bis zum 8. Tage zunimmt, dass nach diesem Zeitpunkte aber in Bouillonculturen eine weitere Leukocidinbildung nicht stattzuhaben scheint (Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

Einstellung verschieden alter Culturfiltrate desselben Stammes.

Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronatexsudates.

Exsudatmenge ccm	Toxinmenge ccm	2 tägiges Filtrat Reduction	4 tägiges Filtrat Reduction	6 tägiges Filtrat Reduction	8 tägiges Filtrat Reduction	16 tägiges Filtrat Reduction
0·5	1·0	0	0	0	0	0
0·5	0·75	spurweise?	0	0	0	0
0·5	0·5	+	0	0	0	0
0·5	0·25	+	spurweise	0	0	0
0·5	0·1	+	spurweise	0	0	0
0·5	0·075	+	+	spurweise	0	0
0·5	0·05	+	+	+	0	0
0·5	0·025	+	+	+	0	0
0·5	0·01	+	+	+	+	+
0·5	0·0075	+	+	+	+	+

Bezüglich Einwirkungs- und Beobachtungsdauer wie Versuch in Tabelle XV.



Einfluss der Alkalescenz der Nährbouillon auf die Leukocidinproduction.

Auch die Frage, in wieweit die Alkalescenz der Nährbouillon für die Leukocidinbildung in Betracht kommt, haben wir in Angriff genommen. Auch für die Production des Leukocidins scheint die $^2/_6$-Bouillon am geeignetsten zu sein.

Inactivirung und Reactivirung.

Van de Velde hatte, wie bereits erwähnt, in seiner des Oefteren citirten Arbeit angegeben, dass das Leukocidin durch Erhitzen auf 58° durch 10 Minuten zerstört wird. Wir können auf Grund unserer Versuche diese Angabe van de Velde's dahin erweitern, dass, wie sich aus der folgenden Tabelle ergiebt, bereits die Temperatur von 50° durch 20′ genügt, um das Leukocidin vollständig zu zerstören (Tabelle XVIII).

Tabelle XVIII.
Inactivirung des Leukocidins bei verschiedenen Temperaturen.
Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronat-Exsudates.

Exsudatmenge ccm	Toxinmenge ccm	Actives Toxin Reduction	Inactivirt bei 45° durch 20′ Reduction	Inactivirt bei 48° durch 20′ Reduction	Inactivirt bei 50° durch 20′ Reduction
0·5	1·0	0	0	0	+
0·5	0·75	0	0	0	+
0·5	0·5	0	0	0	+
0·5	0·25	0	0	spurweise?	+
0·5	0·1	0	0	+	+
0·5	0·075	0	0	+	+
0·5	0·05	0	0	+	+
0·5	0·025	0	0	+	+
0·5	0·01	0	spurweise	+	+
0·5	0·0075	0	+	+	+
0·5	0·005	spurweise	+	+	+

Bezüglich Einwirkungs- und Beobachtungsdauer wie Versuch in Tabelle XV.

Für das Hämolysin hat sich ergeben, dass bei 50° noch Spuren des Giftes vorhanden waren, die erst bei 56° vollständig verschwanden. Diese Differenz in der Inactivirungstemperatur zwischen den beiden Giften wollen wir jedoch nicht zu hoch anschlagen; eventuell noch vorhandene Spuren des Leukocidins können leicht dem Nachweis entgehen, da wir bei der Leukocidinuntersuchung mit einem weniger empfindlichen Indicator arbeiten als bei dem Hämolysin.

Eine Reactivirung des inactivirten Leukocidins gelang ebenso wenig, wie die des Hämolysins.



Leukocidinproduktion verschiedener Aureus- und Albus-Stämme.

In gleicher Weise, wie auf Hämolysin haben wir auch eine Anzahl derselben Stämme bezüglich ihrer Leukocidinproduktion geprüft. Das Resultat giebt die nachstehende Tabelle XIX.

Tabelle XIX.

Quantität des Leukocidins in den Filtraten verschiedener Stämme von Staphylococcus aureus und albus.

Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronat-Exsudates.

	Menge des Aleuronat-exsudates ccm	Nr. des Stammes	L_+ (einfache, complet abtödtende Dose für 0·5 ccm Aleuronatexsudat) ccm	Wie vielfach normal, wenn ein Gift, dessen $L_+ = 0·1$ ist, als normal angenommen wird
Staphylococcus aureus	0·5	1	0·075	1·33
	0·5	2	1·0 (?)	1/10 (?)
	0·5	3	1·0 (?)	1/10 (?)
	0·5	4	1·0 (?)	1/10 (?)
	0·5	5	0·5	1/5
	0·5	6	1·0 (?)	1/10 (?)
	0·5	7	—	—
	0·5	8	0·25	2/5
	0·5	9	1·0 (?)	1/10 (?)
	0·5	11	0·0075	13·3
	0·5	12	0·25	2/5
	0·5	15	—	—
	0·5	19	—	—
Staph. albus	0·5	1a	—	—
	0·5	2a	—	—
	0·5	3a	—	—
	0·5	4a	0·005	20
	0·5	5a	0·025	4

Exsudat + Toxin wurden zunächst 1½ Stunden im Thermostaten gehalten, dann Methylenblau zugesetzt, und die Reduction nach weiterem 2stünd. Aufenthalt im Thermostaten beobachtet. — bedeutet, dass Leukocidin nicht nachweisbar war.

Wie bereits erwähnt, können wir bei jenen Stämmen, deren Filtrat erst in der Menge von 1·0 ccm leukocide Wirkungen erkennen liessen, nicht mit Sicherheit angeben, ob das Ausbleiben der Reduction auf die Einwirkung des Leukocidins zurückzuführen ist, oder eventuell auf den Carbolgehalt oder andere Erscheinungen, die mit dem Salzgehalte u. s. w. der Bouillon zusammenhängen.



Aus diesen Untersuchungen erhellt, dass die Leukocidinproduction der untersuchten Aureusstämme innerhalb weiter Grenzen schwankt, da ein Stamm die 133 fache Menge Toxin produciren kann als ein anderer.

Die beiden nicht pyogenen Stämme 15 und 19, in deren Culturfiltraten wir kein Hämolysin nachweisen konnten, zeigten auch keine Leukocidinproduction.

Dagegen fanden wir auch eine Anzahl pyogener Aurei, bei denen wir Leukocidinproduction nicht mit Sicherheit nachweisen konnten. Bezüglich dieser Stämme müssten erst weitere Untersuchungen ergeben, ob die Leukocidinproduction thatsächlich vollkommen fehlt; namentlich müssten die Filtrate dieser Stämme nach verschieden langem Wachsthum untersucht werden, um bei dem verhältnissmässig rasch vor sich gehenden Zerfall des gebildeten Leukocidins den richtigen Zeitpunkt für die Untersuchung zu gewinnen. Ein Theil dieser Untersuchungen fiel übrigens in die Zeit, in welcher wir noch nicht mit der Thatsache bekannt waren, dass die $^2/_6$-Bouillon für die Toxinproduction am geeignetsten ist.

Einen Stamm, der Leukocidin, aber kein Hämolysin producirt hätte, konnten wir bisher nicht auffinden.

Durch Vergleich der Hämolysin- und Leukocidinproduction eines und desselben Stammes fanden wir, dass einzelne Stämme beide Gifte ziemlich gleichmässig produciren, dass es aber andererseits Stämme giebt, bei denen das Leukocidin von dem Hämolysin an Menge weit übertroffen wird, dass also Leukocidin- und Hämolysinproduction nicht Hand in Hand gehen.

Von 5 untersuchten Albusstämmen zeigten 3 keine Leukocidinproduction. Bei diesen liess sich auch Hämolysin nicht nachweisen. Dagegen zeigten zwei aus pathologischen Processen stammende Albusstämme Leukocidin in sehr reichlicher Menge, ebenso, wie diese Stämme ja auch im Gegensatz zu den übrigen Albusstämmen Hämolysin gebildet hatten.

Sind die Leukocidine verschiedener Aureusstämme unter einander identisch?

Sind Aureus- und Albusleukocidin identisch?

Die Frage nach der Identität des von verschiedenen Aureusstämmen producirten Leukocidins liess sich leicht dadurch entscheiden, dass wir die leukocide Wirkung der verschiedenen Filtrate durch ein Serum aufzuheben versuchten, das durch die Immunisirung mit einem einzigen Aureustoxin gewonnen war. Diese Untersuchungen führten zu dem Resultate, dass die leukocide Wirkung sämmtlicher Aureusfiltrate sich durch ein solches Immunserum neutralisiren liess, dass wir also das Recht haben, die Leukocidine sämmtlicher untersuchter Aureusstämme als identisch anzusehen.



In gleicher Weise wurde die Frage entschieden, ob das Albus- und Aureusleukocidin identisch seien, indem wir die leukocide Wirkung der Albusfiltrate durch ein Aureus-Antitoxin zu neutralisiren versuchten.

Es ergab sich, dass auch das von den 2 Albusstämmen producirte Leukocidin mit dem Aureusleukocidin identisch war.

Steigerung der Leukocidinproduction durch Thierpassage.

In Kürze sei noch darauf hingewiesen, dass es möglich war, einen Stamm, der durch lange Fortzüchtung auf Agar zum grössten Theile die Fähigkeit der Leukocidinproduction verloren hatte, durch einige Thierpassagen (Kaninchen, intrapleural) auf die ursprüngliche Höhe der Toxinproduction, ja sogar über diese hinaus zu bringen.

Antileukocidin.

Denys und van de Velde[1] war es bereits gelungen, durch Immunisirung von Kaninchen mit dem Culturfiltrat von Staphylococcus pyogenes aureus einen Antikörper im Serum der Versuchsthiere zu erzeugen, der im Stande ist, die leukociden Wirkungen des Culturfiltrates aufzuheben.

Wir haben diese Versuche von Denys und van de Velde wiederholt.

Bezüglich der Art der Toxininjectionen, die für die Erzeugung des Antitoxins zu wählen ist, gelten dieselben Bedingungen, die bereits ausführlich bei dem Antikörper des Hämolysins des Staphylotoxins angegeben worden sind.

Antileukocidin normaler Sera.

Zunächst untersuchten wir die Frage, ob die normalen Sera verschiedener Thierspecies Antileukocidin in nachweisbarer Menge besitzen. — Entgegen der Annahme von Denys und van de Velde müssen wir berichten, dass es uns nicht gelang, im normalen Kaninchenserum Antileukocidin nachzuweisen. Denys und van de Velde stützten ihre Behauptung von der Anwesenheit eines normalen Antikörpers gegen das Leukocidin im Kaninchenserum auf folgende Beobachtung: Zur Bestimmung der Werthigkeit eines Staphylotoxins wurde dasselbe bis zu demjenigen Grade verdünnt, bei welchem eben noch bemerkbare, wenn auch verzögerte Schädigungen der beschriebenen Art sich an den weissen Blutkörperchen mikroskopisch nachweisen liessen. Diese Verdünnungen des Toxins wurden

[1] Denys und van de Velde, Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. *La cellule*. T. XI. Fasc. 2.



zum Theile mit physiologischer Kochsalzlösung, zum Theile mit normalem Kaninchenserum ausgeführt, und da zeigte sich die Thatsache, dass man bei der Verdünnung mit Kaninchenserum nicht so weit hinabgehen konnte, wie bei der mit physiologischer Kochsalzlösung, d. h. dass man bei Verdünnung mit normalem Kaninchenserum grössere Toxinmengen nöthig hatte, um den gleichen Effect zu erzielen. Denys und van de Velde schlossen voraus auf eine partielle Giftneutralisation, bedingt durch einen im normalen Kaninchenserum enthaltenen Antikörper. Wie bereits erwähnt, konnten wir einen solchen Antikörper nicht nachweisen, und es liesse sich die Differenz, die Denys und van de Velde zwischen einem mit physiologischer Kochsalzlösung und einem mit normalem Kaninchenserum verdünnten Toxin constatierten, vielleicht dadurch erklären, dass das Serum für die Leukocyten eine adaequatere Flüssigkeit war, als die Kochsalzlösung, und dass deshalb die Leukocyten sich gegen das Toxin resistenter erwiesen.

Dagegen konnten wir im normalen Pferdeserum und im Menschenserum ähnlich wie für das Hämolysin einen Antikörper des Leukocidins nachweisen, wie aus den beiden folgenden Tabellen XX und XXI hervorgeht.

Tabelle XX.

Antitoxingehalt eines normalen Pferdeserums (bei 56° inactivirt) gegenüber Leukocidin. Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronatexsudates.

	Exsudatmenge	Toxinmenge	Menge des inactiven Pferdeserums	Reduction
	0·5 ccm	0·05 ccm	1·0 ccm	+
	0·5 „	0·05 „	0·75 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·5 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·25 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·1 „	spurweise
Controle I	0·5 ccm	0·05 ccm	—	0
Controle II	—	—	0·5 ccm	0

Controle I beweist, dass 0·05 ccm Toxin ohne Pferdeserum im Stande sind, die Leukocyten zu tödten.

Controle II beweist, dass das Pferdeserum allein keine Reduction hervorrief. (Sterilitätsprüfung.)

Das Toxin + Pferdeserum wurden zunächst eine Stunde im Brutschrank gelassen, dann die Leukocyten zugesetzt. Einwirkungsdauer des Toxin-Pferdeserum-Gemisches und Beobachtungsdauer wie bei Versuch in Tabelle XXII.

Das Pferdeserum war bei 56° durch eine halbe Stunde inactivirt worden, um eventuell im normalen Pferdeserum vorhandene Lysine für Kaninchen — Leukocyten zu zerstören.



Tabelle XXI.

Antitoxingehalt eines normalen Menschenserums (bei 56° inactivirt) gegenüber Leukocidin.

Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronatexsudates.

	Exsudatmenge	Toxinmenge	Inactives Menschenserum	Reduction
	0·5 ccm	0·05 ccm	1·0 ccm	+
	0·5 „	0·05 „	0·75 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·5 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·25 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·1 „	+
	0·5 „	0·05 „	0·075 „	0
	0·5 „	0·05 „	0·05 „	0
Controle I	0·5 ccm	0·05 ccm	—	0
Controle II	—	—	0·5 ccm	0

Bezüglich Controle I und II, sowie bezüglich der übrigen Bemerkungen zum Versuche vergleiche Tabelle XX.

Tabelle XXII.

Einstellung eines künstlich erzeugten Antitoxins (Kaninchen) gegenüber Leukocidin.

Lr = 0·25 ccm des verdünnten Aleuronatexsudates.

	Exsudatmenge	Toxinmenge	Menge des Antiserums	Reduction
	0·5 ccm	0·1 ccm	1·0 ccm	+
	0·5 „	0·1 „	0·75 „	+
	0·5 „	0·1 „	0·5 „	+
	0·5 „	0·1 „	0·25 „	+
	0·5 „	0·1 „	0·1 „	+
	0·5 „	0·1 „	0·075 „	+
	0·5 „	0·1 „	0·05 „	spurweise
	0·5 „	0·1 „	0·01 „	spurweise?
	0·5 „	0·1 „	0·0075 „	spurweise?
	0·5 „	0·1 „	0·005 „	0
Controle I	0·5 ccm	0·1 ccm	—	0
Controle II	—	—	0·5 ccm	0

Toxin + Antiserum 1 Stunde im Thermostat, dann Zusatz des Exsudates. Einwirkung des Toxin-Antitoxin-Gemisches auf die Leukocyten $1\frac{1}{2}$ Stunden. Zusatz von 2 Tropfen Methylenblau, Beobachtung nach 2 Stunden.

Controle I beweist, dass die Menge von 0·1 ccm Toxin die Leukocyten in einem halben Cubikcentimeter des verdünnten Exsudates abtödtet.

Controle II beweist, dass das Antiserum selbst nicht reducirt (Sterilitätsprüfung).



Durch Immunisirung gewonnene Antikörper.

Die Immunisirungen wurden an Kaninchen und Ziegen vorgenommen. Als Beispiel für die Werthigkeit eines solchen specifischen Antiserums gelte der in der vorstehenden Tabelle XXII wiedergegebene Versuch.

Die Frage der Wirksamkeit des durch Immunisirung mit einem Toxin erzeugten Antikörpers gegen alle von Staphylococcus aureus und albus stammenden Leukocidine wurde bereits erörtert.

Wir schliessen aus Vorstehendem, dass nur die typischen pyogenen Staphylokokken (Aurei und Albi) ein Leukocidin, und zwar ein und dasselbe Leukocidin, produciren. Ob diese Leukocidinbildung ein ebenso constantes Merkmal der pyogenen Staphylokokken ist, wie wir es für das Hämolysin nachweisen konnten, muss weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Jedenfalls aber bildeten Staphylokokken (Aurei und Albi), welche zum Theil schon culturell, besonders aber durch den dauernden Mangel der Hämolysinproduction, von den typischen pyogenen Staphylokokken verschieden waren, auch kein Leukocidin.

Nephrotoxin.

Gelegentlich der Immunisirung mit dem Staphylotoxin durch intravenöse Injection, in geringerem Grade auch bei subcutanen, wurden eigenthümliche Veränderungen in den Nieren der Versuchsthiere constatirt, über welche von Hrn. Collegen Levaditi auf dem vorjährigen internationalen Congresse zu Paris bereits berichtet wurde.

Diese Nierenveränderungen haben ihren Sitz in der Nierenrinde; weder die Marksubstanz noch die eigentliche Papille erscheinen betroffen. In der Nierenrinde unterscheidet man 3 Zonen. Geht man von der Peripherie gegen das Centrum, so findet man:

1. Eine fast circuläre, unregelmässige Zone, in der die tubuli contorti zum Theile zu Grunde gegangen sind, und in der die peritubulären Zwischenräume erfüllt sind mit einer enormen Menge fragmentirter, vollständig zerstörter Leukocyten.

2. Eine mittlere Zone, in der die leukocytäre Reaction geringer ist, in der aber die Nekrose des Epithels ausserordentlich ausgesprochen ist. Nur ein geringer Theil der Epithelien der tubuli contorti besitzt noch ihren Kern, der jedoch die Zeichen der Pyknose und damit des Zellunterganges zeigt. Der grösste Theil der Zellen ist nicht gefärbt, kernlos, im Zustande der Coagulationsnekrose. Die Harncanälchen enthalten vereinzelt hyaline Cylinder, ausserdem fragmentirte zerfallene Leukocyten. In dieser



Zone sind die Glomeruli in ausgedehnter Weise verändert. Es finden sich an ihnen alle Uebergänge von der einfachen Hyperämie bis zur völligen Nekrose, bei welcher von dem Glomerulus nichts übrig ist, als ein formloser Haufen ohne Structur, umgeben von einer geschrumpften Kapsel.

3. Eine ausgedehnte Zone, die der ersten gleicht und reich ist an fragmentirten Leukocyten, namentlich in den peritubulären Räumen; in dieser Zone findet man, dass, während ein Theil der Gefässe normal durchgängig für das Blut ist, eine grosse Anzahl von Gefässen erfüllt sind von Thromben, die aus zerfallenen Leukocyten und ausserdem aus Fibrin bestehen.

Diese Veränderungen der Nierenrinde sind herdförmig, doch fliessen zumeist die veränderten, nekrotischen Herde zusammen, so dass unveränderte Rindengebiete nur sehr spärlich vertreten sind.

Diese Veränderungen in der Niere können nur als Infarcte gedeutet werden, die durch den Befund thrombosirter Gefässe genügend erklärt werden. Diese Thrombosen der Gefässe sind bedingt, wie das mikroskopische Bild es zeigt, durch den reichlichen Zerfall von Leukocyten, welchen wir wiederum als Folge der Leukocidinwirkung auffassen müssen.

Ribbert[1] hatte bereits in seiner Monographie die nach intravenöser Injection von Staphylokokkenculturen beim Kaninchen auftretenden Veränderungen der Nieren, des Herzens, der Lungen, der Milz und des Knochenmarkes beschrieben. Die Nieren zeigten nach ihm erstens herdförmige, durch die Gegenwart der Kokken selbst bedingte Erkrankungen (Abscesse, Infarcte) und diffuse Veränderungen, die er auf Toxinwirkung zurückführt. Den Beweis für die Toxinwirkung erbringt Ribbert dadurch, dass er eine Reihe von Versuchsthieren mit sterilisirten Culturen intravenös und subcutan injicirte.

Die Sterilisirung wurde theils durch Kochen, theils durch mehrstündiges Erwärmen auf 55 bis 60° bewirkt, da Brieger und Fränkel nachgewiesen hatten, dass das von ihnen aus Staphylococcus pyogenes aureus dargestellte Toxalbumin seine Giftigkeit durch Erwärmen über 60° verlor. Nach Injection der sterilisirten Culturen konnte Ribbert diffuse Degeneration und herdförmige thrombotische Veränderungen in den Nieren nachweisen.

Diese von Ribbert beschriebenen Befunde haben mit den von uns eben mitgetheilten nichts Gemeinsames. Zunächst erwähnt Ribbert

[1] Ribbert, Die pathologische Anatomie und die Heilung der durch den Staphylococcus pyogenes aureus hervorgerufenen Erkrankungen. *Monographie.* Bonn 1891.



nichts von Infarcten, die durch zu Grunde gegangene Leukocyten erzeugt werden, ferner sind auch seine auf Toxinwirkung zurückgeführten Befunde nach Injection sterilisirter Culturen nicht einwandsfrei, weil er zunächst bei der Injection der sterilisirten Culturen das todte Kokkenmaterial mit einspritzte, also durch dieses eine mechanische Verlegung der Gefässe möglich war, ferner weil sowohl das Kochen, als auch das mehrstündige Erhitzen der Culturaufschwemmung auf 55° bis 60° sicher jede Spur des Toxins zerstört hatte, also von einer Toxinwirkung nicht mehr die Rede sein konnte. Die erwähnten beiden Momente fielen bei der von uns ausgeführten Injection von Culturfiltrat fort, da in dem Filtrate keinerlei corpusculäre Elemente vorhanden waren, es sich also bei den Veränderungen um reine Toxinwirkung handeln musste.

Unsere Befunde sind deshalb von Wichtigkeit, weil aus ihnen erhellt, dass dieselben Veränderungen, die wir im Reagensglase, van de Velde auch im pleuritischen Exsudate nachgewiesen hatten, auch an den im kreisenden Blute vorhandenen Leukocyten durch das Toxin hervorgerufen werden.

Waren die Nierenveränderungen durch die mechanische Verlegung der Gefässe durch die abgetödteten Leukocyten genügend erklärt, so war trotzdem noch die Möglichkeit gegeben, dass ausserdem durch das Toxin eine directe Schädigung des Nierenepithels, namentlich der gewundenen Harncanälchen erfolgt. Eine solche Möglichkeit erscheint durch die übereinstimmenden Befunde theils degenerativer Natur an den Epithelien der Harncanälchen, theils nephritischer Processe bei lang dauernden Eiterungen um so wahrscheinlicher. Denn bei allen Formen der Nephritis handelt es sich nach Weigert[1] stets auch um Veränderungen an dem Epithel der Harncanälchen, mögen diese nun Erscheinungen der Degeneration oder einfachen Atrophie (Weigert) darbieten.

Werden Nierenepithelien durch Staphylotoxin abgetödtet?

Wir versuchten den Nachweis der Abtödtung der Epithelien mittels der bioskopischen Methode zu führen. Zunächst handelte es sich darum, auch hier die Dosis minima reducens zu bestimmen.

Die Versuchsanordnung war folgende: Da das Staphylotoxin, wie aus den vorhergehenden Versuchen hervorgeht, sowohl die weissen als auch die rothen Blutkörperchen schädigende Toxine enthält, und wir nicht wussten, ob dasjenige Gift, das eventuelle Schädigungen der Nierenepithelien her-

[1] Weigert, Die Bright'sche Nierenerkrankung vom pathologischen Standpunkte. Volkmann's *Sammlung klin. Vorträge.* 162 u. 163. 1879.



vorruft, mit einem der beiden anderen Gifte identisch ist oder nicht, so mussten wir Nierengewebe zur Untersuchung haben, das möglichst frei von Blut war. Zu diesem Zwecke wurde ein lebendes Kaninchen von der Jugularis aus mit $1^1/_2$ bis 2 Liter warmer physiologischer NaCl-Lösung durchspült. Die Organe waren dann vollständig anämisch und sahen wie gekocht aus.

Von den Nieren eines so durchbluteten Kaninchens wurde die Nierenrinde abgetragen, unter Zusatz einer Spur von sterilem Quarzpulver sorgfältig verrieben und mit 10 ccm einer 0·85 procentigen Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser Organaufschwemmung wurde nun die Dosis minima reducens bestimmt, wie aus der nächstfolgenden Tabelle XXIII zu ersehen ist.

Tabelle XXIII.
Bestimmung der Dosis minima reducens einer Nierenrindenaufschwemmung.

Menge der Nierenaufschwemmung	Reduction
6 Tropfen	+
5 „	+
4 „	+
3 „	+
2 „	0
1 „	0

Zusatz von 2 Tropfen Methylenblaulösung; beobachtet nach 1 Stunde.

Wir gaben nun zu je 5 Tropfen der Organemulsion fallende Mengen unseres Staphylotoxins zu, liessen dasselbe eine Stunde lang einwirken und setzten dann je 2 Tropfen unserer Methylenblaulösung zu. Das Resultat des Versuches zeigt die folgende Tabelle XXIV.

Tabelle XXIV.
Einstellung eines Toxins gegenüber einer Nierenrindenaufschwemmung.

Menge der Nierenaufschwemmung	Toxinmenge	Reduction
5 Tropfen	1·0	+
5 „	0·75	+
5 „	0·5	+
5 „	0·25	+
5 „	0·1	+

Einwirkung des Toxins auf die Organaufschwemmung 1 Stunde. Dann Zusatz von 2 Tropfen Methylenblaulösung. — Beobachtung nach $^1/_2$ Stunde.



Aus diesem Versuche ergibt sich, dass die mit Staphylotoxin versetzte Organemulsion genau ebenso rasch und vollständig reducirte, wie die ohne Staphylotoxinzusatz. Da aber durch Kochen oder Alkohol u. s. w. abgetödtete Nierensubstanz die Fähigkeit der Reduction verliert, wie sich aus entsprechenden Versuchsreihen ergab, so müssen wir annehmen, dass in unserem Falle die Nierenepithelien durch die Einwirkung des Staphylotoxins nicht abgetödtet worden waren.

Ein zweiter Versuch wurde in der Weise angestellt, dass an zwei Kaninchen die Niere von rückwärts frei präparirt wurde, und in die Substanz der Nierenrinde des einen Kaninchens 0·25 ^{ccm} Staphylotoxin und in die des anderen Versuchsthieres 0·25 ^{ccm} inactivirten Toxins mittels einer Pravaz'schen Spritze mit feiner Canüle injicirt wurden.[1] Die Wundheilung verlief vollkommen aseptisch.

Die nach 5 Tagen getödteten Thiere liessen makroskopisch keine Differenz in dem Aussehen der Nieren erkennen. Eine mikroskopische Untersuchung wurde nicht vorgenommen. Auch dieser Versuch scheint dafür zu sprechen, dass eine Abtödtung der Nierenepithelien durch das Staphylotoxin nicht stattfindet. Trotzdem uns aber der experimentelle Nachweis der directen Einwirkung des Staphylolysins auf die Nierenepithelien nicht gelungen ist, möchten wir gleichwohl die Möglichkeit einer solchen directen Einwirkung nicht ausschliessen.

Zusammenhang des Staphylokokken-Hämolysins und -Leukocidins.

Nachdem beide Gifte getrennt untersucht waren, lag die Frage nahe, in welchem Verhältniss zu einander beide Gifte stehen.

Dass es nicht die Wirkung eines Giftes sein könnte, ging schon daraus hervor, dass das Auftreten und Verschwinden beider Gifte nicht gleichmässig erfolgte. So fanden wir einmal, dass am vierten Tage Leukocidin schon reichlich vorhanden war, während das Hämolysin erst spurweise nachweisbar war. Und andererseits verlor ein Gift im Eisschrank sein Leukocidin völlig, ohne vom Hämolysin viel einzubüssen. Und schliesslich enthielten die verschiedenen Gifte, wie aus den Tabellen zu ersehen ist, die beiden Gifte in ganz verschiedenem Verhältniss. Daraus folgt mit Sicherheit, dass die toxophoren Gruppen der beiden Gifte

[1] Hr. College Levaditi hatte die Freundlichkeit, uns diese Technik anzugeben und bei der Ausführung der Versuche behülflich zu sein.



verschiedene sein müssen, die unabhängig von einander entstehen und vergehen (oder in Toxoid übergehen) können.

Es war nun zu untersuchen, ob auch die haptophoren Gruppen verschiedene waren, oder ob etwa beide toxophoren Gruppen die gleiche haptophore Gruppe besassen. Um es anders auszudrücken, es war also zu untersuchen, ob das Verhältniss von Hämolysin und Leukocidin dasjenige war, wie es ein Toxin zum Toxon hat, oder ob es so war, wie sich Tetanospasmin zum Tetanolysin verhält.

Für die Auffassung der gleichen haptophoren Gruppen spricht mancherlei: Einmal die Thatsache, dass durch Immunisirung mit einem hämolysinhaltigen, aber leukocidinfreien Gift ein Antikörper auch gegenüber dem Leukocidin entsteht. Aber das wäre auch erklärlich, wenn die haptophoren Gruppen verschieden sind, nur müsste man dann annehmen, dass in diesem scheinbar leukocidinfreien Gifte das Leukocidin doch vorhanden war, aber in der erwähnten „blinden" Form als Toxoid. Tizzoni und Centanni[1] haben Derartiges augenscheinlich beim Tetanusgift erlebt. Denn wenn sie mit einem tetanolysinfreien Gifte immunisirten, erhielten sie gleichwohl einen Antikörper gegen das Tetanolysin.

Weiterhin spricht für die Gleichheit der haptophoren Gruppen die Thatsache, dass da, wo normaler Weise Antistaphylolysin vorkommt (Mensch, Pferd), auch stets Antileukocidin vorhanden ist. Man müsste anderenfalls dann doch an die Möglichkeit einer specifischen Entstehung dieser normalen Antitoxine (also durch überstandene Staphylokokkeninfectionen) denken.

Und schliesslich kann man durch Zugabe von Erythrocyten zu einem Gifte sowohl das Hämolysin als auch das Leukocidin absorbiren. Auch das spricht also für die Gleichheit der haptophoren Gruppen, es wäre denn, dass die Erythrocyten Receptoren sowohl für das Hämolysin wie für das Leukocidin besitzen.

Wir würden nach alledem also annehmen, dass beide Gifte die gleiche haptophore Gruppe besitzen, wenn nicht ein ausschlaggebender Einwand dagegen spräche.

Es ist uns nämlich bei sehr zahlreichen Versuchen niemals gelungen, durch Zugabe von Leukocyten zu einem Staphylotoxin beide Gifte zu absorbiren. Es verschwand wohl stets das Leukocidin und auch etwas Hämolysin, aber eine sehr starke Abnahme des Hämolysins haben wir nie erzielt. Dass etwas Hämolysin verschwindet, ist nicht wunderbar, wenn man bedenkt, dass jedes Leukocytenexsudat ziemlich reichlich Erythrocyten enthält. Auf Grund dieser letzteren Versuche müssen wir

[1] *R. Academia delle Scienze dell' Istituto di Bologna.* Bologna 1900.



deshalb annehmen, dass Hämolysin und Leukocidin sowohl verschiedene toxophore wie verschiedene haptophore Gruppen besitzen, dass sie sich also verhalten etwa wie Tetanospasmin zu Tetanolysin.

Schluss.

Es ist somit gezeigt worden, dass die pyogenen Staphylokokken zwei Arten Blutgifte produciren, welche als Toxine im engeren Sinne zu bezeichnen sind. Und damit gehören die Staphylokokken in die Reihe derjenigen Mikroben, welche lösliche Gifte produciren. Man wird deshalb bei der Deutung mancher Erscheinungen in der Pathologie der Staphylomykosen neben den Giften der Kokkenleiber auch diese löslichen Staphylokokkentoxine in Betracht ziehen dürfen.



[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut der K. Universität Neapel.]

Ueber ein Protozoon des Meerschweinchens.

Von

Dr. **Giuseppe Pianese,**
I. Assistent und Privatdocent der pathol. Anatomie.

(Hierzu Taf. X u. XI.)

I.

Die Geschichte des Parasiten rührt ganz von mir her. Im Jahre 1891, als ich mich mit den Krankheitserscheinungen und den histologischen Verletzungen beschäftigte, die der Bacillus bei einem Fall von Chorea in den Thieren veranlasste, ist es mir gelungen, in den Nieren eines Meerschweinchens, welchem ich die sterilisirten Producte des Bacillus injicirt hatte, einen seltsamen Befund zu bemerken, über welchen ich in einer Anmerkung meiner Arbeit über die Chorea von Sydenham, in einer sehr wenig exacten Weise, mit folgenden Worten berichtete:

„In den Schnitten dieser Nieren, welche nach meiner Methode mit Methylenblau und Eosin in Anilinwasser gefärbt sind — mit den Carmin- oder Hämatoxylinfärbungen ist die Sache nicht klar — findet man, dass das Epithelium der aufsteigenden Henle'schen Schleifen oder der gewundenen Canälchen oder auch der Tubuli recti die Wand des Canälchens nicht ganz gleichförmig bedeckt, denn es ist in einer und manchmal auch in zwei Stellen bald ganz verschwunden, bald nur discontinuirlich, bald unverletzt aber aus der Wand abgesetzt und nach der Lichtung herausgedrängt, während einige eiförmig verlängerten Körperchen, die grösser als die Kerne sind, den Platz des Epitheliums einnehmen, oder in der Mitte desselben liegen, oder den Raum zwischen der Wand des Canälchens und dem nach der Lichtung heraufgedrängten Epithelium ausfüllen, oder mit dem sprossenden Epithel Knöpfe bilden, welche in die



Lichtung des Canälchens bald mehr, bald weniger, und oft so viel, dass sie dasselbe vollständig verschliessen, hervorragen.

Bei Präparaten, die mit Carmin oder Methylenblau gefärbt sind; mit Carmin, Methylenblau und Picrinsäure sind die Kerne der benachbarten oder in diesen Knöpfen liegenden Epithelzellen etwas degenerirt, weil sie sich nicht mehr so intensiv wie die Kerne der gesunden Zellen färben, und zuweilen nicht ganz rundlich, sondern geschwollen, verlängert, zusammengepresst und manchmal auch kleiner sind, während das Chromatinnetz nicht so deutlich, aber gröber ist.

Canälchen mit solchen Verletzungen finden sich hier und da bei den Schnitten mit mehr oder weniger grossen (Feuerräumen), während der Rest des Parenchyms keine merkwürdige Veränderung darbietet. Auch die Verbindung der Nachbarschaft der afficirten Tubuli erscheint vollständig normal.

Diese auf einem Punkt der Wand des Canälchens aufsitzenden Knöpfe zeigen verschiedene Phasen.

Bald bestehen sie (und diese sind die jüngsten) aus einer gewissen Anzahl von zelligen Elementen, welche durch ihre Form und Färbung scharf unterscheidbar sind, und aus einer ungefähr gleichen Anzahl von eiförmigen Körperchen, und ausserdem ragen sie wenig in die Lichtung des Canälchens hervor; bald bestehen sie aus vielen eiförmigen Körperchen und sehr wenigen Epithelzellen, welche in der Form wenig oder mehr verändert sind; bald endlich aus einer mehr oder weniger homogenen Substanz, welche die Lichtung des Canälchens ganz oder zum Theil einnimmt, innerhalb derselben die zelligen Elemente entweder ganz und gar verschwunden, oder durch ihre Form und die Art und Weise ihres Verhaltens gegen die Farben kaum unterscheidbar sind, während jene eiförmigen Körperchen entweder ihre Form noch bewahren, aber sie sind gröber granulirt, oder in einen pigmentirten Detritus umgewandelt. In diesem letzten Falle ist nicht nur das Epithelium des Punktes, wo der Knopf aufsitzt, verschwunden, sondern auch dasjenige der übrigen Wand ist mehr oder weniger verändert.

Die Körperchen, welche zwischen und manchmal innerhalb der Epithelzellen liegen, haben gewöhnlich Eiform mit einem grossen rundlichen Pole, und zuweilen sind sie sphärisch, so gross wie der Kern der Epithelzellen oder ein wenig mehr. Dieselben sind grob granulirt und von einer Membran scharf begrenzt.

Nun, was sind denn diese eiförmigen Körperchen?

Gewiss müssen sie nicht mit den Kernen der Epithelzellen, die in Entartung sind, besonders wegen ihrer Form und durch die Art und Weise ihres Verhaltens gegen die kernfärbenden Stoffe, verwechselt werden; wir halten sie für Coccidien.



Die kleinen sphärischen Formen sind die Anfangsstadien dieser einzelligen Parasiten, welche wie protoplasmatische Keime in die zelligen Elemente hineinkommen. Später werden sie grösser und besitzen gröbere Kerne, und von den befallenen Zellen bleibt nichts als wenig Protoplasma: zuletzt werden sie oval und nehmen die Form reifer Coccidien an. Sie haben eine doppelte Membran, die äussere, welche zweifellos von der verdickten zelligen Membran ausgebildet ist, wie es aus meinen Präparaten deutlich hervorgeht.

In Folge dessen lösen die Epithelzellen sich auf, aber zuletzt sterben die Coccidien auch inmitten des zelligen Detritus, und von ihnen findet man nur stark pigmentirte Körner.

Es ist wichtig, das Verhalten dieser Coccidien gegen die verschiedenen Farben zu kennen. Mit Carmin und Hämatoxylin färben sie sich entweder ganz und gar nicht oder sehr schlecht. Durch die Anilinfarben dagegen können sie klar dargestellt werden.

Mit Löffler's alkalischem Methylenblau färben sich die Kerne lichtblau und die Coccidien dunkelblau; mit Saffranin die Körner rothgelb und die Coccidien roth; mit Säurefuchsin die Körner blassroth, die Parasiten rubinroth.

Aber mit doppelten und dreifachen Färbungen wird die Sache noch deutlicher. Mit Carmin und Methylenblau färben sich die Kerne dunkelblau mit einem röthlichen Schimmer des Carmins, und die Coccidien hellblau; mit Carmin und Methylengrün die Kerne röthlichgrün, die Parasiten grün; mit Carmin, Methylenblau und Picrinsäure die Kerne hellroth, die Coccidien blassgrün, das Protoplasma gelb u. s. w.; mit Biondi'scher Flüssigkeit (Aurantin, Methylengrün und Säurefuchsin) die Kerne grün, die Coccidien roth u. s. w. Ueberdies bleiben sie unveränderlich, wenn man sie mit Säuren behandelt und verschwinden nicht mit Aetzkali."

Nach dieser ersten Untersuchung habe ich noch früher diesen Befund in den Nieren des Meerschweinchens bemerkt, aber, zu meinem Unglück, immer in Meerschweinchen, die entweder von mir oder von Anderen des Instituts mit Substanzen vergiftet worden waren, welche zweifellos einen schädlichen Einfluss auf das Nierenepithel haben (Eisen, Phosphor, Sublimat).

Und ich habe zu meinem Unglück gesagt, weil das Zusammenfallen des Befundes jener Körperchen mit der Vergiftung von jenen Substanzen in mir den Zweifel entstehen liess, dass jene Körperchen durch die Einwirkung jener Gifte in besonderer Weise degenerirte Zellen von den Nierencanälchen wären, es nicht ganz unmöglich war, in den nach meiner ersten Methode fixirten und gefärbten Präparaten einen stetigen Ueber-



gang von den normalen Kernen bis zu jenen besonderen Körperchen zu bestimmen.

Hätte ich schon am Anfang meiner Untersuchungen die Methoden zu meiner Verfügung gehabt, um an frischem Material im hängenden Tropfen die Lebenserscheinungen jener Körperchen zu studiren, und die speciellen Färbungsmethoden, um die feinen Eigenthümlichkeiten ihrer Structur zu entdecken, welche ich später gefunden habe, dann hätte ich die Frage in einer viel einfacheren und entschiedeneren Weise lösen können. Aber da mir jene Mittel fehlten, versuchte ich die mir dargestellte Frage mit den Experimenten zu lösen, welche ich, um die Naturgeschichte dieses Parasiten zu vollenden, hier zu berichten für nothwendig halte.

Ich meinte, dass man jene Körperchen, wenn sie Zellveränderungen wären, die von den injicirten Substanzen verursacht worden waren, nicht in den Meerschweinchen, die niemals zu Versuchen gedient hatten, finden konnte.

Deshalb untersuchte ich die Nieren von fünf ganz normalen Meerschweinchen, und bei einem derselben fand ich jene Körperchen, wenn auch nur in geringer Zahl.

Doch begnügte ich mich noch nicht mit jenem Befunde, und um schliessen zu können, dass jene Körperchen in einer besonderen Art veränderte Zellen waren, griff ich zu folgenden Untersuchungen. Jedem von den 6 Meerschweinchen, die offenbar gesund waren und niemals zu Versuchen gedient hatten, zog ich die linke Niere heraus, die ich, nachdem ich sie rechtmässig katalogisirt hatte, für die weiteren Versuche in Alkohol fixirte.

Nachdem sie von der Operation geheilt waren, injicirte ich einem jeden 1 ^{ccm} von einer 0·2 procent. wässerige Sublimatlösung; am dritten Tage tödtete ich sie und fixirte in Alkohol die rechte Niere von jedem derselben.

Nachher untersuchte ich die beiden Nieren jedes Meerschweinchens, nachdem sie in Paraffin eingebettet und in Schnitt gefärbt waren, und fand, dass, wenn jene Körperchen (das erschien bei zwei von den sechs Meerschweinchen) in der rechten mit Sublimat vergifteten Niere vorhanden waren, sie auch in der linken exstirpirten Niere erschienen; dagegen, wenn (und das war bei den anderen vieren der Fall) sie nicht bei der letzten erschienen, waren sie auch in der ersten nicht mehr vorhanden.

Auf diese Art überzeugte ich mich, dass jene Körperchen ihren Ursprung nicht aus Zellenveränderungen hatten.

Dass sie Sporozoarien waren, habe ich mit Sicherheit feststellen können, als ich ihre Entwickelung (bisher nur theilweise) im hängenden



Tropfen verfolgen und in den Schnitten der Nieren, welche mit geeigneten Methoden gefärbt waren, die verschiedenen Phasen endogener Vermehrung studiren konnte.

II.

Ich habe schon eine Reihe von Untersuchungen angefangen, um die Biologie dieses Protozoons, seine Pathogenität, seine Wirkung auf die histologische Structur der Niere des Meerschweinchens und der verschiedenen Organe der Thiere, auf welche seine Pathogenität wirkt, u. s. w. zu untersuchen, und wenn sie gut ablaufen, werde ich dieselben, je nachdem sie zu Ende kommen, veröffentlichen.

Unterdessen werde ich in dieser ersten Arbeit

a) von den Entwickelungsphasen, welche das Protozoon in der Niere des Meerschweinchens durchläuft,

b) von den feinen histologischen Veränderungen, welche es in diesem Organe hervorruft, sprechen.

Das Protozoon, das ich beschreibe, findet man mit einer gewissen Häufigkeit bei den Nieren des Meerschweinchens; diese Häufigkeit ist, so wie bei dem eiförmigen Coccidium des Kaninchens, grösser oder kleiner nach den Jahreszeiten und den Orten, woher die Meerschweinchen kommen. Auf solche Weise, während ich im Verlaufe von 5 Jahren — von 1893 bis 1898 — bei mehr als 150 Meerschweinchen, deren Nierenpräparate ich untersuchen konnte, nur 15 Mal (10 Procent) jene Körperchen getroffen habe, habe ich sie im vorigen und noch mehr in diesem Jahre bei mehr als einem Drittel (34 Proc.) der Zahl der untersuchten Meerschweinchen gefunden; die Meerschweinchen von diesen beiden letzten Jahren stammten von anderen Orten als wie die der Jahre 1893 bis 1898 ab. Aber möglich ist es auch, dass dieser Häufigkeitsunterschied davon herrührt, dass ich von 1893 bis 1898 nicht mit besonderer Rücksicht auf den Gegenstand arbeitete und mit weniger Aufmerksamkeit die Präparate durchsuchte.

Die Meerschweinchen, deren Nieren solche Parasiten enthalten, scheinen in keiner Weise krank zu sein, und, wenn sie secirt werden, kann man auch bei der sorgfältigsten Beobachtung keine merkwürdigen anatomisch-pathologischen Eigenthümlichkeiten entdecken. Auch im Schnitte erscheint die Niere vollständig normal, und nur wenn die Zahl der Parasiten, die sich dort eingenistet haben, ausserordentlich gross ist, zeigt sie sehr dünne Streifungen, die in gelbbrauner Farbe in die ganze



Rindensubstanz ausstrahlen; diese Rindensubstanz ist etwas weniger widerstandsfähig wie in der Norm.

Dennoch ist die Niere durch solche Parasiten functionell geschwächt. Ich habe Gelegenheit gehabt, zu bemerken, dass die Meerschweinchen mit inficirten Nieren bei der Vergiftung durch Sublimat weniger als die gesunden widerstehen können und ihr Tod schneller eintritt; in den Nieren sind die für Sublimat charakteristischen makroskopischen und mikroskopischen Beschädigungen viel deutlicher.

Trotz meiner ausführlichen Untersuchungen, die ich bisher gemacht, habe ich bloss in der Niere den Parasiten gefunden. Nur einige Male habe ich denselben in der Harnblase gefunden und in diesem Falle erschien der Urin trübe und milchig; öfter aber längs des Ureters. Bei dem einen wie bei dem anderen Organe fand sich der Parasit frei in der Lichtung und nicht innerhalb des Epithels und auf den Wänden angesiedelt.

Um sich am frischen Material zu versichern, ob der Parasit sich bei der Niere des Meerschweinchens einnistet, ist es genügend, nachdem die Niere halbirt ist, nach dem Abwaschen des Blutes an der Oberfläche des Schnittes mit einem feinen Wasserstrahle und nach Abtrocknen mit Löschpapier ein wenig Rindensubstanz abzuschaben und die Schabsel in einer Kochsalzlösung zu beobachten.

In diesem Falle, wenn der Befund positiv ist, ist es sehr leicht, den Parasiten zwischen den von einander gelösten Nierenepithelien oder innerhalb der Canälchen zu unterscheiden, nicht bloss durch seine besondere Form, sondern durch eine grössere Lichtbrechung und eine hellbräunliche perlmutterartige Färbung, oder einen Haufen von reifen Coccidien (Taf. X), oder in verschiedenen Entwickelungsstufen, so wie es in Figg. 2 bis 11 der Taf. X dargestellt ist (der Sporulationscyclus von Simond, oder endogene Entwickelung von Pfeiffer, oder, wie ich sage, Mionomorph, der zu Bildung von Sicheln oder Merozoiten von Simond (Figg. 2 bis 7, Taf. X) kommt), oder Encystirungsphasen (Fig. 11, Taf. X), oder die Stadien der Pseudonavizellen, so wie ich sage (Taf. X, Fig. 8), bezw. der Muttersphäre (Fig. 9, Taf. X) u. s. w.

Um die Stadien, die das Protozoon in der Niere durchläuft, und die Veränderungen, die dasselbe hervorruft, zu studiren, ist es nöthig, dass kleine Stückchen der Organe fixirt und gefärbt werden mit einer meiner folgenden Methoden, welcher ich mich bei ähnlichen Untersuchungen über das eiförmige Coccidium des Kaninchens bedient habe.[1]

[1] Pianese. Le fasi del Cocc. oviforme, ecc. *Archives de Parasitologie* (publ. par le Prof. Blanchard). Paris 1899.



1. Fixirmethoden.

Der Fixirmischungen sind zwei, und die erste, die ältere, mit welcher der grösste Theil meiner Versuche durchgeführt worden sind, ist:

1·0 procent. wässerige Lösung von Natriumplatinchlorid		15 ccm
0.25 „ „ „ „ Chromsäure	. . .	5 „
2·0 „ „ „ „ Ueberosmiumsäure	.	5 „
Chemisch reine Ameisensäure	. . . .	1 Tropfen.

Und die andere ist:

10 procent. wässerige Lösung von Cobaltchlorür	. . .	20 ccm
2 „ „ „ „ Ueberosmiumsäure	.	5 „
Chemisch reine Ameisensäure	. . . .	1 Tropfen.

In der einen oder in der anderen von diesen Fixirmischungen lässt man diese kleinen Stückchen 36 Stunden lang liegen, die ein wenig grösser sein müssen wie die Stückchen, welche man in der Flemming'schen Lösung zu fixiren pflegt; dann wäscht man dieselben in destillirtem Wasser sorgfältig während 24 Stunden aus und härtet sie in Alkohol von ansteigender Concentration. Nachher werden sie voll entwässert und in Terpentin oder Chloroform, die so lange, bis sie sich nicht mehr gelbbraun färben, erneuert werden müssen, und zuletzt in Paraffin übertragen.

Die Stückchen können auch in Celloidin eingeschlossen werden, aber die Färbungen werden in diesem Falle nicht so schön.

Die Paraffinblöcke werden mit dem Mikrotom geschnitten, und die Schnitte, die entweder auf Objectträger in Reihenfolge aufgeklebt oder frei sind, werden mit einer von den folgenden Färbemethoden gefärbt.

2. Färbemethoden.

a) Färbung der Schnitte, die auf Glas aufgeklebt oder frei sind, während 15 Minuten in Saffranin von Friedländer;

Längere Entfärbung in Alkohol von 70 und dann von 90 Procent;
Färbung während 10 Minuten in alkalischem Methylenblau;
Entfärbung in 1 procent. wässerige Essigsäurelösung;
Auswaschen in destillirtem Wasser;
Entwässerung in Alkohol von aufsteigender Concentration;
Aufhellen in Xylol;
Einschliessen in Xylolcanadabalsam.

b) Schnittfärbung während 15 oder 20 Minuten in der Mischung von

Malachitgrün	50 cgrm
Fuchsinsäure	10 „



Martiusgelb . . . . 1 cgrm
Destillirtes Wasser . . . . . 150 ccm
Alkohol (96 Procent) . . . . 50 „

Entfärbung in 1 procent. essigsaurem Wasser;
Auswaschen in destillirtem Wasser;
Rasche Entwässerung in absolutem Alkohol;
Xylol, Xylolbalsam.

c) Schnittfärbung, während 15 Minuten, in der Mischung von

Tionin . . . . 50 cgrm
Fuchsinsäure . . . . 10 „
Metanilgelb . . . . 1 „
Destillirtes Wasser . . . . 150 ccm
Alkohol (96 Procent) . . . . 50 „

Entfärbung in Alkohol (70 Procent) mit einigen Tropfen Essigsäure;
Entwässerung in absolutem Alkohol, Xylol, Xylolbalsam.

d) Schnittfärbung, während 10 bis 20 Minuten, in der Mischung von
Saures Fuchsin (gesätt. wässerig-alkohol. Lös.), 6 Tropfen
Picronigrosin von Martinotti . . . . . . 8 „
Destillirtes Wasser . . . . 10 ccm;

Entfärbung in 1 procent. essigsaurem Wasser;
Alkohol von aufsteigender Concentration, Xylol, Xylolbalsam.

Um die Merozoiten in den Muttercysten noch deutlicher zur Darstellung zu bringen, dienen noch besser unter dem Gesichtspunkte der Beständigkeit die Fixirung in Alkohol von aufsteigender Concentration (von 60 bis 99°) und die Schnittfärbung mit der folgenden Methode, mit welcher I bis XIII und Fig. 1 der Taf. X erhalten worden sind.

e) Färbung der gut entwässerten Schnitte in
Saffranin (gesättigte alkoholische Lösung) . 10 ccm
2 procent. wässerige Lösung von Phenol . . 30 „ ;

indem man die Lösung so weit erwärmt, dass sie zum Dampfen kommt; nachdem die Lösung abgekühlt ist,

Differenzirung der Schnitte in Alkohol von 70° mit einigen Tropfen von Essigsäure;

Gewöhnlicher Alkohol.

Färbung, während 2 bis 3 Minuten in
Tionin (gesättigte wässerige Lösung) . . . 10 ccm
0·01 procent. Kaliumbicarbonat-Lösung . . 30 „ ;

Theilweise Entfärbung in Alkohol von 70°;



Färbung in einer möglichst verdünnten Lösung von Aurantia (5 bis 10 Tropfen von einer wässerig-alkoholischen Lösung von 0·50 Procent) in 10 ccm destillirtes Wasser;
Schrittweise Entwässerung;
Xylol; Xylolbalsam.

Bei den Präparaten mit dieser letzten Fixir- und Färbemethode, welche schon bei geringer Vergrösserung in den Nierencanälchen, und besonders mehr als in den Henle'schen Schleifen, in den gewundenen und in geraden Canälchen erhalten worden sind, findet man Cystoniden, die bald in geringer Anzahl (von 3 bis 5 auf jedes Gesichtsfeld), bald sehr zahlreich (von 20 bis 30) und oft verschiedenartig gefärbt (blau, lila, bläulichroth oder roth) sind.

Jede Cystonide besteht aus einer Anzahl von Elementen, die von 5 bis 15 und manchmal noch mehr schwankt, welche bald rundlich, bald oval sind, und ist von einer mit doppelter Contour versehenen, dünnen, aus einer homogenen und stark brechenden Substanz gebildeten Membran umgeben, welche sich an die Elemente, die an der Peripherie der Cystoniden liegen, straff legt, und sie folgt den Windungen, die aus der verschiedenen Gruppirungsart von jenen entstehen.

Nur selten findet man isolirte Elemente in der Lichtung der Canälchen oder zwischen den Epithelzellen von jenen. Diese Cystoniden sind fest auf der Wand der Canälchen aufsitzend, so dass das Epithel fehlt, wo sie sich finden, und die benachbarten Epithelzellen sind zusammengedrückt oder bei Seite geschoben.

Sehr oft ragen sie nur wenig in die Lichtung der Canälchen vor; aber es ist nicht selten, dass sie dieselben fast vollständig verschliessen. Gewöhnlich auf derselben Schnittebene eines Canälchens findet man bloss eine Cystonide; zuweilen aber sind sie zwei und auch drei, die sich mit ihren freien Enden berühren. Ausserdem findet man nicht selten Canälchen, meistens die geraden, die in Längsschnitten sind, welche von einer grossen Anzahl von Cystoniden fest zugepfropft erscheinen, die abwechselungsweise auf den beiden Schnittlinien der Wände aufsitzen; unterhalb derselben sind die Epithelzellen entweder ganz verschwunden oder in ihre Schatten verwandelt, oder sie haben einen Kern, der kaum färbbar ist.

Bei einer stärkeren Vergrösserung erscheint der Bau der Cystoniden deutlicher und andere Eigenheiten der einzelnen Elemente treten ebenfalls hervor (Taf. X, Fig. 1); aber auch in den Epithelzellen findet man die Anfangsstadien des Protozoons, die besser als mit der Fixirmethode in Alkohol und mit der Färbung in Saffranin, Tionin und Aurantia, mit



der ersten meiner Fixirmethoden und nach der mit der Färbemethode *b* deutlicher erscheinen.

Die Entwickelungsstadien dieses Protozoons in der Niere des Meerschweinchens, welche mit den oben beschriebenen Methoden deutlicher gemacht werden, sind sehr ähnlich denjenigen, die das eiförmige Coccidium in der Leber des Kaninchens durchlaufen.

Demgemäss, wenn man mit der ersten meiner Fixirmethode fixirt und nach der Methode *b* färbt, besteht die jüngste Form des Protozoons, die man immer in den Epithelzellen des Harncanälchens findet, aus einem kleinen rothen oder leicht ovalen Körperchen (Taf. X, Fig. *a*), das ein wenig grösser als ein rothes Blutkörperchen und aus einem homogenen dünnen Protoplasmakörper gebildet ist, der sich rosenroth färbt und mit sehr kleinen, in einer gewissen concentrischen Anordnung vertheilten Körnerchen, die sich dunkelroth färben, bedeckt ist. Dieselbe Form besteht auch aus einem schön runden oder ovalen, im Centrum oder an einem der Pole des Parasiten liegenden Körperchen, welches aus zwei gesonderten Theilen besteht, aus dem Kern, der sich braunroth färbt und aus dem Nucleolus oder Kariosoma von Labbé, oder Binnenkörper von Rhumbler, der sich grün färbt.

In diesem ersten Stadium findet sich das Protozoon immer in jener Zone des Zellprotoplasmas, die zwischen den Kernen und dem freien Rand der Zelle liegt; und weder der Kern noch das Protoplasma zeigen in diesem Stadium des Parasiten eine besondere Veränderung, weil dieses Protozoon nicht kernverzehrend ist.

Später nimmt es an Volum zu, und der Kern wird grösser, mit mehr scheinbarem Nucleolus und mit schärfer sichtbarer Kernmembran; und die Körner vertheilen sich rings um den Kern in concentrischen Streifen, und die mehr peripheren werden grösser und intensiver färbbar.

Nun finden sich diese Körner in jedem einzelnen Individuum in verschiedener Anzahl (von 8 bis 40 und mehr) und je zahlreicher, um so kleiner sind sie; in einer späteren Entwickelungsphase erscheinen sie von einer dünnen Grenzmembran umgeben, während ihre Substanz homogener und dünner geworden ist.

In Folge dessen erscheint in der Mitte eines jeden solchen Körnchens ein kleines rundes Körperchen, das sich intensiv grün färbt (Taf. X, Fig. *c*), in dem der Kern mit dem Nucleolus verschwunden ist, und an seiner Stelle findet man nur eine übrig gebliebene Masse.

Diese so gebauten Körperchen würde ich Zooblasten nennen.

Die Zahl und die Anordnung dieser Zooblasten ändert sich mit der Zahl und der Anordnung der Körner, von denen sie abstammen; denn es

giebt Coccidien, die 20 bis 40 und mehr (Taf. X, Fig. *n*) davon haben. und Coccidien, die sechs (Taf. X, Fig. *q*), neun von jenen (Taf. X, Fig. *f*) u. s. w. haben. Sind sie zahlreich, so sind sie klein, in verschiedener Weise zerstreut und erfüllen das ganze Individuum; sind sie spärlich, so sind sie dick und ringförmig in der Peripherie angeordnet, bald in einer einzigen Linie (Taf. X, Figg. *e*, *f*, *g*), bald in zweien (Taf. X, Fig. *d*).

Die Protoplasmasubstanz der Coccidie trägt dazu bei, diese Zooblasten zu bilden, denn während diese sich bilden, wird jene immer weniger; ferner erscheint sie zuerst grob (Taf. X, Fig. *g*), dann sehr fein gekörnt (Taf. X, Fig. *h*) und schliesslich verschwindet sie ganz (Taf. X. Figg. *f*, *n*, *r*).

Auch während des Ablaufes der verschiedenen oben beschriebenen Entwickelungsphasen erscheint der Kern der Zellen, wo das Coccidium sich einnistet, ganz normal, da er sich sehr intensiv färbt und sein Nucleïnnetz mit seinen Knötchen sehr deutlich ist. Das Protoplasma ist doch in einigen Stellen mehr rareficirt und in anderen, besonders rings um den Kern, mehr verdichtet (Taf. X, Fig. *r*).

Unterdessen ist die Membran, die das junge Coccidium begrenzte, dicht geworden, so dass der Parasit in der Zelle von dem Protoplasma, das ihn umgiebt, jetzt scharf begrenzt erscheint, und er gleicht einem Säckchen, in welchem die Zooblasten enthalten sind.

Diese Zooblasten nehmen noch an Volum zu und bekommen eine ovale Gestalt mit einem spitzeren Pole und haben den Kern mit grün gefärbtem Nucleolus, gekörntes und roth gefärbtes Protoplasma und eine sehr deutliche Grenzmembran (Taf. X, Fig. *n*). Zuweilen sind diese Zooblasten in demselben Coccidium nicht von gleicher Grösse, denn einige haben ein Volum, welches mehr als doppelt so gross als das der anderen ist, und sie sind in einer noch weiter fortgesetzten Entwickelungsphase (Taf. X, Fig. *r*).

Von diesen Zooblasten leiten sich nun die sichelförmigen Körper oder Merozoiten ab.

Um die ersten Entwickelungsphasen des Coccidiums zu studiren, ist die Fixirung mit meiner Mischung (aus Osmiumsäure, Chromsäure, Natriumplatinchlorid, Ameisensäure) mit der hierauf folgenden Färbung nach meiner Methode *b*, sehr passend; um die Bildung der Merozoiten zu studiren, eignen sich mehr die Fixirung in Alkohol von aufsteigender Concentration und die Färbung nach meiner Methode *e*.

Freilich, während mit jenen ersten Methoden uns ein Cystonide oder Haufen von Coccidium erscheint, so wie in *l* und *m* der Taf. X, erscheint es mit den anderen Methoden wie in VII und VIII, und in der Fig. I



derselben Tafel, und das Coccidium ist isolirt in seinen verschiedenen Formen wie in IX und XIII derselben Taf. X.

Nun lassen wir die in I, II und III, Taf. X, dargestellten Phasen bei Seite, welche jenen in *f*, *g*, *q*, *n* derselben Tafel dargestellten entsprechen, und verfolgen die Entwickelung des Coccidiums, indem wir die einzelnen Elemente des Haufens studiren, die in IV bis VIII und Fig. I dargestellt und mit mittlerer Vergrösserung (von 500) gezeichnet sind, und diejenigen, welche in IX bis XIII dargestellt und mit einer linearen Vergrösserung (von 1000) erhalten sind.

Vor Allem ist es deutlich, dass die Reaction des Haufens der Coccidien gegen Farbstoffe sich ändert mit der Entwickelungsphase, in welcher die einzelnen Coccidien, die sie bilden, sich finden, das ist eine Reaction gegen Farbstoffe, die von himmelblau über blau und lila in roth übergeht, während die einzelnen Coccidien von dem Stadium der Zooblasten bis zu jenem der Merozoiten gelangen.

Nun, nachdem jeder in dem Cystonide enthaltene Zooblast wie in III der Taf. X erscheint, wird er von rund oval, das Karyosom verschwindet und ausserordentlich kleine Körner erscheinen in dem Endoplasma (IV).

In Folge dessen werden solche Körner — während jedes einzelne Element des Cystoniden an Volum zunimmt, und es wird schärfer länglich eiförmig (V) und umgiebt sich mit einer echten Kapsel (VI und VII) — unförmig scharf rundlich, färben sich intensiver und vertheilen sich in einer gewissen Anordnung in dem Endoplasma (VII).

Rings um diese Körner wird später das Endoplasma spärlicher in der Peripherie und eine dünne Membran begrenzt jedes einzelne so gebildete Element (VIII). Auf solche Weise entstehen neue Zooblasten (Zooblasten einer zweiten Generation?), welche, während das zwischen ihnen liegende Protoplasma zuerst fein granulirt wird (IX) und dann ganz verschwindet, wie bei der Fig. I mit Karyosoma, homogenem Endoplasma und begrenzender Membran zuletzt erscheinen.

Von jedem dieser neuen Zooblasten, entweder unmittelbar oder durch auf einander folgende Veränderung, entstehen Merozoiten oder sichelartige Körper (X bis XI), von welchen man bei jedem Coccidium eine verschiedene Anzahl (30 bis 40 und mehr, XII und Fig. I) finden kann. Bei einer geringen Anzahl sind sie grösser (Merozoiten), als bei einer grossen Anzahl (Mikromerozoiten).

Wenn die Zoocysten sich auflösen, werden solche Merozoiten frei und befallen die anderen Nierenepithelzellen, wo sie dann alle die bisher von mir beschriebenen Stadien durchlaufen.

Dass dieses Coccidium in der Niere des Meerschweinchens sich durch Chromatozoiten vermehrt, kann ich nicht sicher sagen, weil ich diese



Vermehrung noch nicht beobachtet habe, sowie ich auch jetzt nicht bestätigen kann, auf welche Art und Weise das Coccidium sich encystirt, obwohl encystirte Formen sich in der Niere finden, wenn es auch nicht sehr häufig vorkommt. Ich werde mich mit diesem Gegenstand wieder beschäftigen, wenn ich über die Entwickelungsphasen des Coccidiums im hängenden Tropfen sprechen werde, und ich hoffe mit mehr Sicherheit als augenblicklich etwas bestimmen zu können.

Welchen Platz kann ich diesem Parasiten des Meerschweinchens in der Familie der Protozoen zuweisen?

Wenn es durch den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse über die Protozoen im Allgemeinen und über die Sporozoarien insbesondere, namentlich wegen der grossen Mannigfaltigkeit der Entwickelungsstadien eines Sporozoariums, sehr schwer ist, auch diejenigen, welche man besser kennt, scharf zu unterscheiden und mit Sicherheit zu classificiren, ist es mir absolut unmöglich, am Anfang der Untersuchungen den in der Niere des Meerschweinchens gefundenen Parasiten zu classificiren.

Aber nach der Theilung, welche von den Meisten heute angenommen wird von Psorozoarien in Mixosporiden, Gimnosporiden, Gregarinen und Coccidien, dürfte ich diesen Parasiten, wegen seiner eigenen Charakteristik, unter die Coccidien classificiren. Die Coccidien sind schon bei den Nieren nicht selten vorhanden; Eimer hat sie in der Niere der Hausmaus, Railliet in der Niere der Gans und Kloss in der Niere der Schnecke gefunden.

Nun werde ich von den histologischen Veränderungen, die das Coccidium in der Niere des Meerschweinchens veranlasst, sprechen.

Diese histologischen Veränderungen können mit meiner Mischung aus Osmiumsäure, Chromsäure, Natriumplatinchlorid, Ameisensäure und mit der Färbung nach der Methode *b* ganz deutlich gemacht werden.

Vor Allem muss ich aber bemerken, dass diese histologischen Eigenthümlichkeiten nicht bei allen Nieren in einer so bedeutenden Weise, wie ich beschreiben werde, vorhanden und nicht bei jeder Niere identisch sind, denn sie erscheinen sehr oft wenig deutlich, wenn sie auch niemals ganz und gar fehlen.

Es scheint mir, dass sie nicht so viel mit der Anzahl der in den Nieren enthaltenen Cystoniden, wie mit der biologischen Thätigkeit und vielleicht mit der Giftigkeit des Coccidiums sich ändern; denn ich hatte während meiner Versuche, wenn auch die Zahl der Cystoniden verhältnissmässig klein war, nicht selten zu bemerken, dass eine üppige Mitosis immer mit einer activen Sporulationsreproduction des Coccidiums über-



einstimmte, und dass die Zellentartungen, die Nekrose u. s. w. mit dem Ruhestand, welcher der Encystirung des Coccidiums vorausgeht, mit einer verhältnissmässig grossen Anzahl von Cystoniden übereinstimmten.

Bei den Nieren mit solchen Coccidien ist die Mitosis der Canälchenepithelien für den Beobachter besonders merkwürdig. Dieselbe ist bald typisch (Taf. XI, Fig. I, IV), bald nicht typisch, und in diesem letzten Falle erscheint sie fast unter allen jenen verschiedenen Formen, die ich in meiner Arbeit[1] schon beschrieben habe: pluripolare Mitose (Taf. XI, V), Versuch zur Mitose (Taf. XI, VII), abortive Mitose (Taf. XI, VIII) u. s. w. Die Karyokinesis ist oft so üppig, dass sie bei vielen Zellen von denselben Canälchen und bei verschiedenen Phasen (Mutterstern, chromatische Spindel, Tochterstern u. s. w.) wie in Fig. I der Taf. XI vorhanden ist.

Ist es doch wichtig, zu bemerken, dass die Zellen in Mitosis nicht in der Nähe des Haufens von Coccidien, sondern immer in einer gewissen Entfernung von diesem sich finden. Doch bei den Zellen, welche diesen in Karyokinesis nahe liegen, findet man die meisten der eingeschlossenen und freien Körper, welche jenen, die man bei den krebsartigen Zellen findet, ganz ähnlich sind (Taf. XI, Figg. I u. II).

Ob diese Körper besondere Zellveränderungen oder Stadien einer eigenartigen Vermehrungsweise des Coccidiums sind, kann ich erst mit Sicherheit behaupten, nachdem ich die Biologie des Coccidiums in hängenden Tropfen durch alle Entwickelungsstadien verfolgt haben werde; und, wenn ich nach weiteren Untersuchungen diese Erzeugungen nicht für Parasiten halten würde, sondern für eigenartige Zellveränderungen, wäre immer die Vermuthung ganz gerechtfertigt, dass die eingeschlossenen Körper des Krebses, da jene Productionen sich bloss bei den Nieren mit solchen Coccidien finden, und es deshalb möglich ist, dass sie durch die Einwirkung solcher Parasiten hervorgebracht werden, durch eine gleiche Einwirkung von Psorozoarien entstehen können.

Einige besondere Entartungen, die man bei den Nierenepithelien findet, sind denjenigen, welche man bei den krebsartigen Zellen beobachtet, ganz gleich (Taf. XI, Fig. I), wie Karyolisis, Nucleinrexis, Protoplasmalisis u. s. w., welche aber, wie ich über die Zellen in Karyokinesis schon gesagt habe, bei Canälchen, die von Coccidien befallen sind, sehr oft erscheinen.

Die Zellen, welche neben den Cystoniden sind, wenn diese auf jene nicht mechanisch einwirken, sind gewöhnlich wenig verändert (Taf. XI, Fig. I).

[1] Pianese, Beitrag zur Histologie und Aetiologie des Carcinoms. Ziegler's *Beiträge*. Erstes Supplementheft. 1896.



Bei ihren Kernen ist bloss das Netz des Karyomitoms isochromatophil, und das Protoplasma ist mehr gekörnt und spärlicher.

Wenn aber die Cystonide sehr dick ist und entweder zum grossen Theil oder vollständig das Lumen des Canälchens erfüllt, bieten die mehr oder weniger zusammengepressten Zellen eine trübe Anschwellung, fettige Degeneration, Plasmolisis, Nekrose dar.

Bei ähnlichen Nieren von Meerschweinchen habe ich einen anderen histologischen Befund, obwohl selten, entdeckt, welcher demjenigen sehr gleich ist, den Maffucci und Sirleo[1] in der Niere eines Hundes, welcher mit ihrer von dem Meerschweinchen herausgenommenen Blastomycete geimpft worden war, und Sanfelice[2] in den Nieren der mit seinem Saccharomyces neoformans geimpften Meerschweinchen beobachtet haben.

Es sind verschiedenartig grosse Knötchen (Taf. XI, Fig. III), welche mit blossem Auge nicht sichtbar sind, die Rindensubstanz vorzugsweise einnehmen und aus kleinen, ein wenig spindelförmigen Elementen mit einem verhältnissmässig grossen Kern mit spärlichem Protoplasma und wenig oder keiner Intercellularsubstanz bestehen. Dieses neugebildete Gewebe dringt unregelmässig in die benachbarten Nierencanälchen ein, welche einige Mal von ihm zusammengepresst werden, und das Epithel nimmt Veränderungen auf, welche von der trüben Anschwellung ab bis zu der Nekrose gelangen können.

Bei jedem Schnitte habe ich 2, 3 bis 5 von diesen Knötchen gefunden, deren einige kaum vorgezeichnet waren und einige einen grossen Theil des mikroskopischen Feldes einnahmen.

Ob diese Knötchen von dem Protozoon, welches in die Niere sich einnistet, abhängen, kann ich nur sagen, wenn ich mit der Inoculation desselben in Nieren von gesunden Meerschweinchen diese Coccidien reproducirt haben werde; nichtsdestoweniger darf ich bestätigen, dass es mir bisher noch nicht gelungen ist, dieselbe bei Nieren von Meerschweinchen, welche solche Parasiten nicht enthielten, zu beobachten.

---

[1] Maffucci e Sirleo, Sulla causa infettiva blastomicetica dei tumori maligni. *Policlinico.* 1897. Vol. IV.

[2] Sanfelice, Sull' azione patogena dei Blastomiceti-Memoria III. *Ann. d'Igiene sperimentale.* 1896. Vol. VI, fasc. III.



Schluss.

I. Bei der Niere des Meerschweinchens habe ich ein Sporozoarium vom Genus der Coccidien gefunden, welches sich besonders vermehrt durch einen Sporulationscyclus mit Merozoiten und Mikromerozoiten.

II. Bei den Nieren, wo die Coccidien sich einnisten, findet man sehr oft:

a) ein active Karyokinesis der Epithelcanälchen, welche bald typisch, bald nicht typisch ist; und in diesem letzten Falle ist sie derselben ganz ähnlich, welche man bei den krebsartigen Zellen beobachtet;

b) eigenthümliche Zellentartungen (Karyolise, Karyorexis, Nucleinrexis, Nucleinlisis u. s. w.), welche auch denjenigen der krebsartigen Zellen ganz und gar gleichen;

c) eingeschlossene Körper innerhalb der Epithelien (sind sie Stadien eines Entwickelungscyclus des Coccidiums oder besondere Entartungen?), welche denjenigen der krebsartigen Zellen ganz ähnlich sind;

d) kleine Knötchen, von endothelialem Aussehen, die von verschiedener Grösse und Zahl, besonders in der Rindensubstanz, sind.



Erklärung der Abbildungen.
(Taf. X u. XI.)

Die Figuren sind am meisten mit der Camera lucida von Abbe-Zeiss erhalten worden und mit einer Vergrösserung von 667 Diametern gezeichnet (Zeiss, Oc. comp. 4 Ob. apocr. 1·5), mit Ausnahme der Figg. 2 bis 11 der Taf. X, die mit einer Vergrösserung von 1000 Diam. (Oc. comp. 8, Ob. apocr. 1·5), und Fig. III der Taf. XI die mit 250 Diam. gezeichnet sind.

Tafel X.

1 bis 11. Von Präparaten aus frischem Material in Kochsalzlösung.

***a* bis *l*.** Von Präparaten der Schnitte, die mit der Mischung aus Osmiumsäure, Chromsäure, Natriumplatinchlorid und Ameisensäure fixirt und nach meiner Methode *b* gefärbt worden sind.

I bis XIII und Fig. I. Von Präparaten der Schnitte, welche in Alkohol fixirt und nach der Methode *e* gefärbt worden sind.

1. Haufen von Coccidien, die in verschiedenen Entwickelungsstadien und schon eingekapselt waren.
2. Morula mit kleinen Elementen.
3. Morula mit grossen Elementen.
4. Cyste mit Zooblasten.
5. Cyste mit Mikromerozoiten.
6. Cyste mit vier Merozoiten.
7. Freie Sichel.
8. Eingekapseltes Coccidium in der Pseudonavicellenphase.
9. Eingekapseltes Coccidium in der Phase der Muttersphäre.
10. Eingekapseltes Coccidium mit Reservekörnern.
11. Coccidium auf dem Wege, eingekapselt zu werden.

a bis *c*. Junges intercellulares Coccidium.

d bis *k*. Bildung und Entwickelung der Zooblasten der ersten Zeugung.

l. Junge Coccidien auf dem Wege, eingekapselt zu werden.

m. Schon eingekapselte Coccidien, welche denen des Kaninchens gleichen, in dem von mir sogenannten Pseudonavicellen-Stadium.

n. Morula mit kleinen Elementen (Mikrozooblasten).

n_1. Morula mit grossen Elementen (Zooblasten).

o. Cyste von Coccidium, mit drei Zooblasten an jedem Pole und übrig gebliebenem Material in der Mitte.



p. Zelle mit einem jungen Coccidium (?) und vier eingeschlossenen Körpern.
q. Zelle mit Coccidium in Vermehrung.
r. Zelle, die eine Cyste mit sieben jungen Coccidien hat.
s. Uebrig gebliebenes Material von aus der Cyste emigrirten Coccidien.
t. Cyste von verschwundenem Coccidium.

I bis III. So wie *d* bis *g*.

IV bis VIII. Weitere Entwickelung der Elemente der Morula bis zu der Entwickelung des Haufens von reifen Coccidien.

IX. Bildung der Zooblasten von zweiter Generation.

X bis XIII. Entstehung der Merozoiten von den Zooblasten der zweiten Generation.

Fig. I. Ein Haufen von Coccidien, mit Zooblasten, der auf der Wand eines Nierencanälchens aufsitzt.

Tafel XI.

Die **Fig. I, II** und die Zellen I bis VIII entstehen von Präparaten der Schnitte, die mit meiner Mischung fixirt und nach der Methode *b* gefärbt worden sind.

Die **Fig. III** vom Präparate eines Schnittes, der in Alkohol von aufsteigender Concentration (60 bis 99°) fixirt und nach der Methode *b* gefärbt worden ist.

Fig. I. Längsschnitt von zwei geraden Canälchen: Einige Zellen bei typischer Karyokinesis. Viele seltsame intra- und extracellulare Bildungen. (Sind sie Phasen eines Entwickelungscyclus des Coccidiums oder Zellentartungen?)

Fig. II. Querschnitt eines Nierencanälchens. Innerhalb der Lichtung des Canälchens eine Anhäufung von cellularen Degenerationsformen. Bei einer Zelle ein junges Coccidium.

Fig. III. Ein Knötchen von endothelialem Aussehen bei der Rindensubstanz.

I. Zelle in atypischer Karyokinesis (Spirema).
II. Zelle in atypischer Karyokinesis (pluripolar).
III. Zelle in atypischer Karyokinesis (nicht polarisirte Chromosomen).
IV. Zelle in typischer Karyokinesis (chromatische Spindel).
V. Zelle in tetrapolarer Karyokinesis.
VI. Zelle mit umgrenzter Jalinosis des Protoplasmas.
VII. Zelle im Versuch zur Mitosis.
VIII. Zelle in Nucleinrexis.

[Aus der I. medicinischen Abtheilung des Allgemeinen Krankenhauses in Hamburg, St. Georg.]
(Director: Prof. Dr. Lenhartz.)

Weitere Mittheilungen über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen. (Paratyphus.)

Von

Dr. **Schottmüller,**
Secundärarzt.

In einer kurzen Mittheilung[1] habe ich über einen Krankheitsfall berichtet, welcher klinisch als Typhus abdominalis anzusprechen war, bei dem ich aber als Erreger einen typhusähnlichen Bacillus hatte nachweisen können.

Im Anschluss an die Besprechung dieses interessanten Befundes, knüpfte ich die Bemerkung, dass diesem wohl eine principielle Bedeutung zukäme, dass aber die Frage, ob ihm auch eine praktische Wichtigkeit beizumessen sei, d. h. ob derartige Fälle häufiger auftreten, vor der Hand noch offen gelassen werden müsse.

In der Fortsetzung meiner bakteriologischen Blutuntersuchung bei typhusverdächtigen Krankheitsfällen nun habe ich im Jahre 1900 im Allgemeinen Krankenhause St. Georg unter 68 Fällen, welche sich im Verlaufe der klinischen Beobachtung als Typhus abdominalis herausstellten, bei 5 Fällen, wie in jenem oben erwähnten, aus dem Blute Bacillen züchten können, welche sich durch wichtige Eigenschaften von dem Typhusbacillus unterscheiden und keinen Falls als solche anzusprechen sind.

---

[1] *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 32.



Ehe ich auf die Beschreibung der gezüchteten Bacillen eingehe, möchte ich die betreffenden Krankengeschichten abgekürzt mittheilen:

Fall I. Johann Kr. 60 jähriger Arbeiter. Aufgenommen am 21. VII. 1900.

Familienanamnese und ältere Vorgeschichte ohne Belang. Vom 9. bis 30. Juni 1900 Gelenkrheumatismus und dann gesund. Etwa am 7. Juli erkrankte Pat. mit starken Kopfschmerzen und allgemeiner Mattigkeit. Später traten Leibschmerzen auf und in den letzten 5 Tagen auch Durchfälle. Bei der Aufnahme wurde folgender Befund erhoben. Es handelt sich um einen ziemlich kräftigen älteren Mann. Das Sensorium ist völlig frei. Er klagt über grosse Mattigkeit und Kopfschmerzen. Brustkorb emphysematös. Grenzen der Lunge tiefstehend, verschieblich. Im Allgemeinen heller Lungenschall, nur rechts hinten unten Schall etwas verkürzt. Dort Athemgeräusch verschärft und spärliche kleinblasige Rasselgeräusche, im übrigen vesiculär Athmen, giemende und schnurrende Geräusche. Wenig Hustenreiz, kein Auswurf.

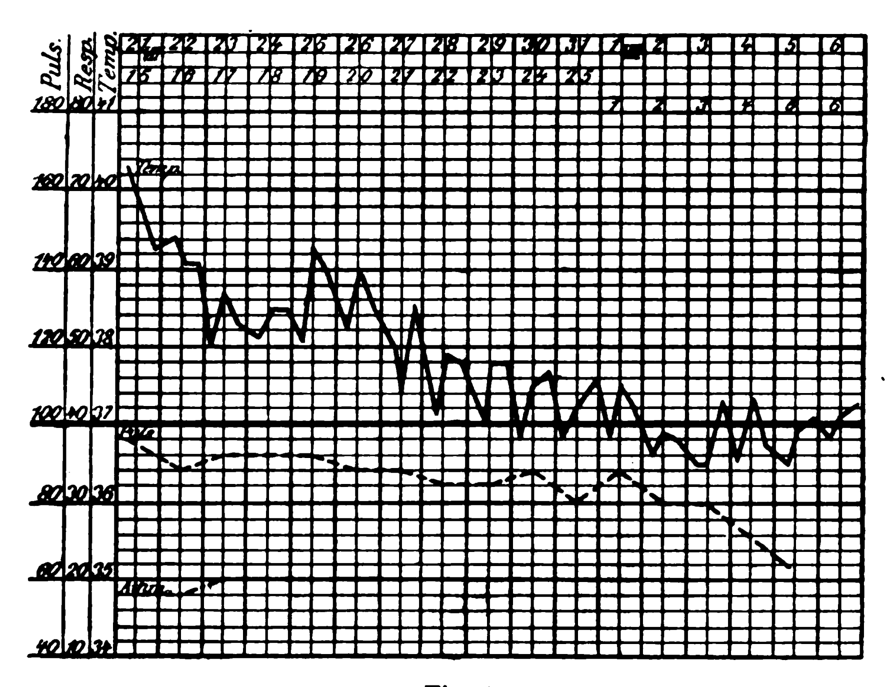


Fig. 1.

Herz nicht verbreitert, z. Th. überlagert. Töne leise, rein. Puls mittelkräftig, regelmässig, aequal. Temperatur 39·8°. Zunge trocken, rissig, mit Borken belegt. Rachenorgane normal. Appetit nicht vorhanden. Abdomen flach, nirgends besonders druckempfindlich. Keine Roseolen. Leber nicht vergrössert. Milz nicht palpabel, Dämpfung vergrössert. Stuhlgang dünnflüssig, grüngelblich.

Urin frei. Spec. Gewicht 1030. Untersuchung des Nervensystems ergiebt normale Verhältnisse.

Am 22. VII. Befund unverändert. Es wurden dem Kranken zu Culturzwecken aus einer Armvene unter aseptischen Cautelen ca. 20 ccm Blut entnommen. Am 26. VII. eine Colonie gewachsen. Ueber das Resultat der weiteren bakteriologischen Untersuchung soll weiter unten im Zusammenhange mit den übrigen Fällen berichtet werden.

Am 26. VII. besteht noch immer die Verdichtung eines Theiles des rechten Unterlappens und eine mässige Bronchitis. Das Allgemeinbefinden hat sich gebessert. Der Puls ist dauernd 90. Die Temperatur fällt lytisch ab. Die Durchfälle haben an Zahl abgenommen.

29. VII. Im Rachen hat sich Soor gebildet.

Die Lungenerscheinungen sind zurückgegangen. Es besteht noch eine geringe Bronchitis.

1. VIII. Pat. ist fieberfrei, fühlt sich wohl, noch geringe Bronchitis. Die Diurese steigt, spec. Gewicht des Urins 1010.

Stuhl angehalten.

Am 7. VIII. wird die Reconvalescenz unterbrochen durch eine leichte Attake von Gelenkschmerzen unter Temperatursteigerungen bis 38.3°.

Dann tritt völlige Genesung ein.

Am 3. IX. 1900 wird Pat. geheilt entlassen.

Fall II. Otto K. 18jähriger Maurer, wird am 17. VII. 1900 in's Allgemeine Krankenhaus aufgenommen. Vorher angeblich nie krank.

Am 13. VII. stellten sich ziemlich plötzlich Kopfschmerzen ein. Der Kranke arbeitete zunächst noch, blieb vom 14. VII. Abends aber im Bett.

Bei der Aufnahme am 17. VII. klagte er über Kopfschmerzen und Mattigkeit.

Das Gesicht des kräftigen Mannes ist stark geröthet, Ausdruck unruhig. Conjunctiven stark geröthet. Lippen und Zunge trocken, rissig. Keine Drüsenschwellung. Körperhaut trocken. Auf dem Abdomen 3 rothe erhabene Flecke.

Brustkorb gut gebaut. Grenzen der Lungen normal und gut verschieblich. Ueberall heller Lungenschall und vesiculäres Athmen Ueber beiden Unterlappen, rechts dichter als links, bronchitische Geräusche. Seltene kurze Hustenstösse. Kein Auswurf.

Herz bietet normale Grenzen. Töne rein.

Puls 96 regelmässig. Von mittlerer Füllung und Spannung. Abdomen flach gewölbt. Viel Durst, kein Appetit. Leber nicht vergrössert. Milz nicht palpabel. Urin enthält eine Spur Eiweiss. Mikroskop. spärliche hyaline Cylinder und Leukocyten, einzelne Nierenepithelien. Stuhlgang angehalten Sensorium leicht benommen. Der Kranke spricht öfters vor sich hin, liegt unruhig, lacht ohne Ursache.

Temperatur 40·7°. Entnahme von 21 ccm Blut aus einer Armvene und Verwendung zu Agarplattenculturen.

Bis zum 20. VII. sind 241 gleichartige Colonieen gewachsen.

Am 18. VII. zweite Blutuntersuchung (22 ccm). Diesmal gehen nur 99 Colonieen auf.

21. VII. Der Zustand und Befund im Wesentlichen unverändert. Temperatur etwas niedriger. Völlige Benommenheit. Nachts Delirien. Pat. will aus dem Bett, ist nur mit Mühe zurückzuhalten. Hat Gesichtshallucinationen

und Beeinträchtigungsideen. So glaubt er, dass er stirbt, hält den Athem an und ruft dann, so, jetzt athme ich schon nicht mehr. Urin und Stuhlgang lässt er unter sich. Bronchitis besteht noch, Milz nicht palpabel. Neue Roseolen sind nicht aufgetreten. Puls seit gestern frequenter, ca. 120 kleiner als bisher. Athmung beschleunigt, 30 bis 40. Schwerer Allgemeinzustand.

26. VII. Zeitweilig ist Pat. klar, besonders nach den Bädern.

Lungenbefund unverändert. Milz nicht palpabel.

28. VII. Temperatur im ganzen niedriger, trotzdem ist Pat. noch zeitweilig unklar.

Ueber beiden Unterlappen noch bronchitische Geräusche, besonders links. Keine Complicationen. Puls aber noch immer frequent und dürftig. Athmung frequent. Gesichtsfarbe cyanotisch. Allgemeinzustand bedrohlich.

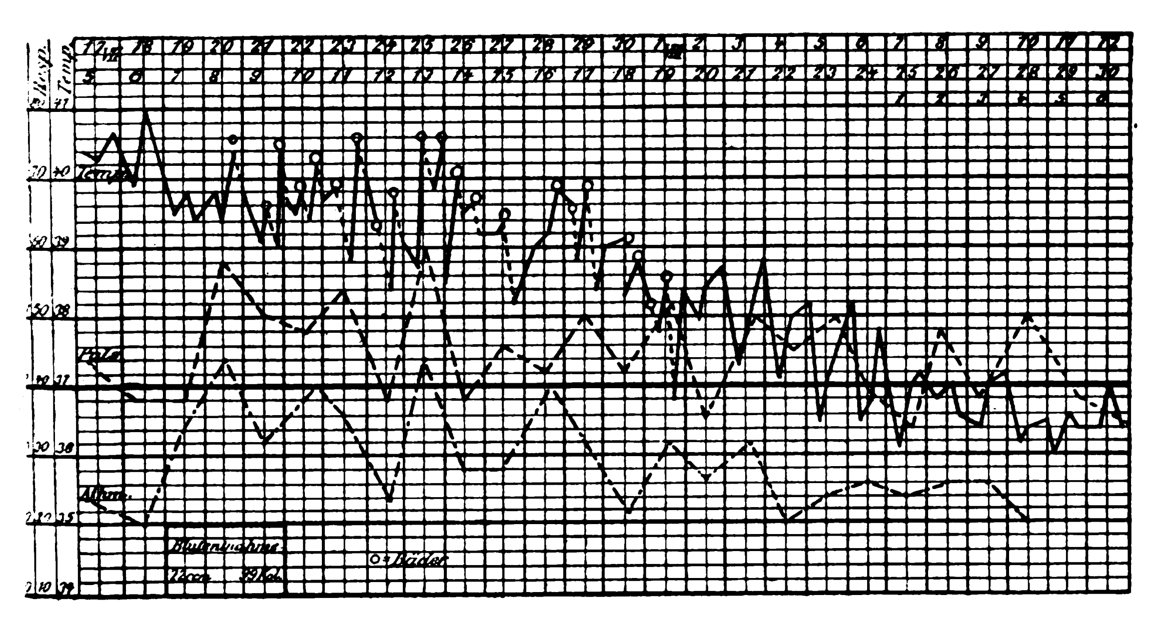


Fig. 2.

31. VII. Temperatur sinkt lytisch. Puls noch immer 100 bis 120 klein. Athmung ruhiger. Ueber dem Unterlappen Bronchitis geringer.

Sensorium frei.

6. VIII. Temperatur heute normal. Puls ruhiger und voller. Pat. fühlt sich wohl. Es stellt sich Hunger ein. Spärliche bronchitische Geräusche.

12. VIII. Temperatur dauernd unter 37° (rectum). Allgemeinbefinden gut. Puls seit dem 9. VIII. unter 100.

16. VIII. Unter leichtem Frösteln Temperaturanstieg. Befinden sonst nicht gestört.

17. VIII. Temperatur steigt weiter bis 39·8°. Objectiver Befund negativ.

23. VIII. Seit dem 19. VIII. wieder fieberfrei. Allgemeinbefinden, abgesehen von grosser Mattigkeit, gut.



26. VIII. Pat. erholt sich. Starke Diurese.

2. IX. Pat. steht auf. Puls etwas labil.

18. IX. Mit einer Gewichtszunahme von 8·2 kg geheilt entlassen.

Fall III. Johann Th. 19 jähriger Heizer, aufgenommen am 24. VIII. 1900. Familienanamnese belanglos. Pat. will immer gesund gewesen sein. Erkrankte unter Fieber vor 8 Tagen mit Kopfschmerzen, allgemeine Mattigkeit und Appetitlosigkeit. Der Stuhl war angehalten.

Bis zum 21. VIII. hat Pat. noch gearbeitet.

Der kräftig gebaute Mann klagt bei seiner Aufnahme noch über die eben geschilderten Beschwerden. Die Gesichtsfarbe ist blass. Haut fühlt

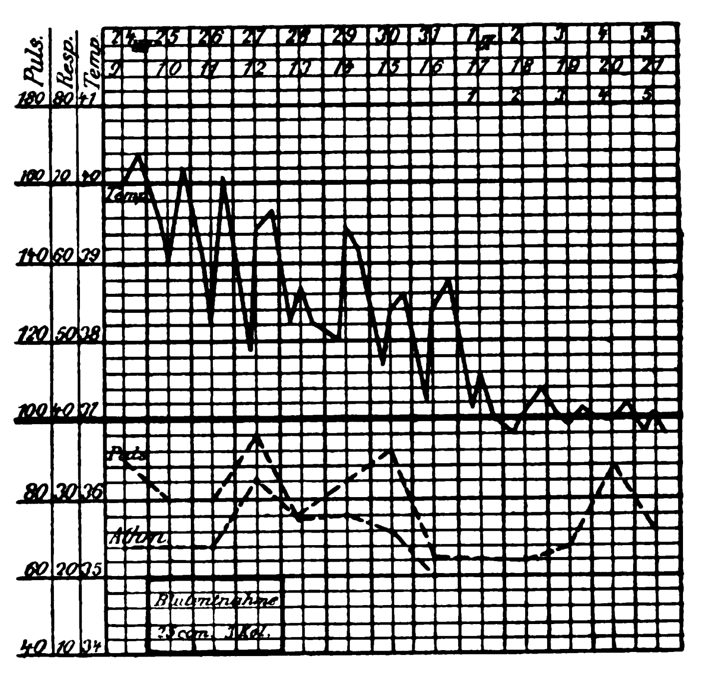


Fig 8.

sich heiss und trocken an. Temperatur 40.2°. Auf Rücken, Brust und Bauch zahlreiche typische Roseolen. Zunge trocken. Rachenorgane ohne Besonderheiten. Thorax gut gebaut, athmet gleichmässig. Grenzen normal. Sonorer Lungenschall, vesicul. Athmen, keine Geräusche. Kein Husten. Herz nicht verbreitert. Töne rein. Puls dicrot, regelmässig und gut gefüllt. Abdomen leicht tympanitisch aufgetrieben, Leber schneidet mit dem Rippenbogen ab. Milz deutlich palpabel. Urin frei. Stuhlgang angehalten. Objectiver Befund im Uebrigen negativ. (Blutuntersuchung: Die Platten hergestellt unter Verwendung von 25 ccm Blut zeigen am 26. VIII. drei gleichartige Colonieen).

27. VIII. Ohne dass neue Erscheinungen auftreten, fällt die Temperatur lytisch ab.

31. VIII. Die Roseolen sind abgeblasst, die Milz ist kaum noch palpabel. Allgemeinbefinden ziemlich gut. Puls dauernd ca. 80.

1. II. Temperatur normal. Milz nicht mehr palpabel. Diurese 2200. Pat. klagt über Hunger.

8. IX. Temperatur dauernd zwischen 36·9° und 37·2° (Rectum). Hohe Diurese (3000 bis 4000). Allgemeinbefinden gut.

1. X. Geheilt entlassen. 6 kg Gewichtzunahme. Complicationen sind nicht aufgetreten.

Fall IV. Carl M. 46 Jahre alt. Weinküfer. — Aufgenommen am 2. IX. 1900. Früher immer gesund, erkrankte vor 3 Wochen mit Kopfschmerzen und Mattigkeit. Seit 8 Tagen sind die Beschwerden stärker aufgetreten, seit 6 Tagen bettlägerig. In den letzten Nächten bestand Unruhe.

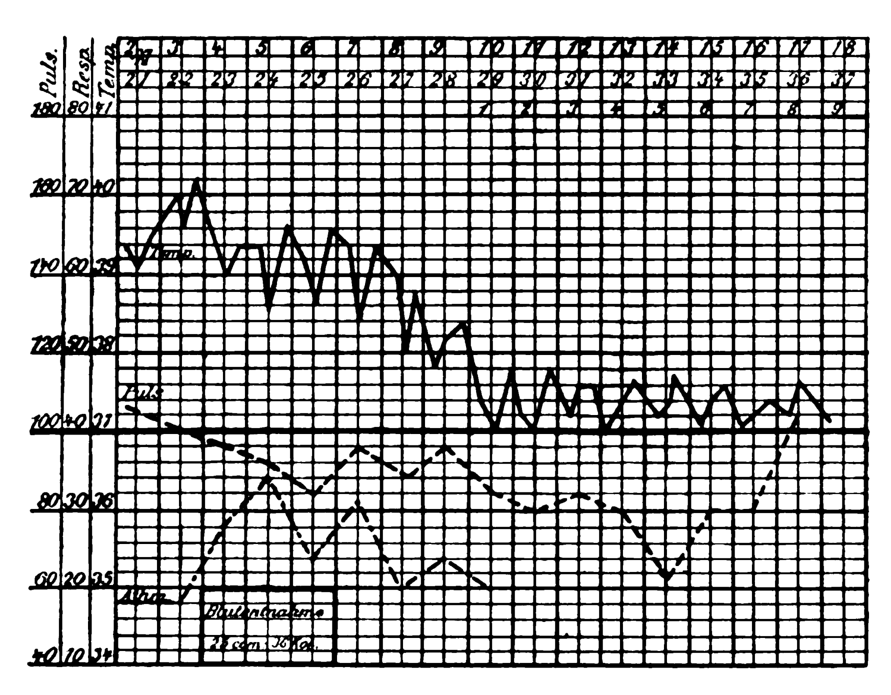


Fig. 4.

Potator. Status bei der Aufnahme. Kräftiger Mann in mässigem Ernährungszustande. Sensorium leicht benommen. Zunge trocken und belegt. Rachenorgane sonst normal. Thorax gut gebaut. Athmet gleichmässig. Grenzen normal und gut verschieblich. Geringe diffuse Bronchitis. Kein Auswurf. Herz nicht verbreitert. Töne rein. Puls voll, regelmässig, etwas beschleunigt, 104. Temperatur 39·5° (rectum). Abdomen leicht tympanitisch aufgetrieben. Auf Brust und Bauch eine geringe Zahl typischer Roseolen. Leber nicht vergrössert. Milz deutlich palpabel. Urin enthält eine Spur Eiweiss. Stuhlgang angehalten. Pat. klagt über starke Kopfschmerzen. Entnahme von 25 ccm Blut zur Anlegung von Agarplattenculturen.

Am 4. XI. sind 7 gleichartige Colonieen aufgegangen.

5. XI. Temperatur hält sich zwischen 39° und 40°. Puls gut, ca. 92



bis 96. Sensorium ist frei. Ruhiger Schlaf. Ueber den Lungen zahlreiche bronchitische Geräusche. Einige neue Roseolen sind aufgetreten. Stuhlgang angehalten.

8. XI. Bronchitis geringer, Roseolen blassen ab. Temperatur fällt lytisch ab. Allgemeinbefinden gut.

10. XI. Bronchitis geschwunden, ebenso die Roseolen. Milz nicht mehr palpabel. Temperatur normal. Diurese 2000 bis 2300.

18. XI. Pat. fühlt sich noch matt. Befund normal. Dauernd fieberfrei. Diurese 3000 bis 3500.

14. XII. Geheilt. 7·9 kg Gewichtszunahme.

Fall V. Wilhelm S. 15 jähriger Mechanikerlehrling. Aufgenommen am 3. XI. 1900. Früher im Wesentlichen nicht krank. Vor 14 Tagen

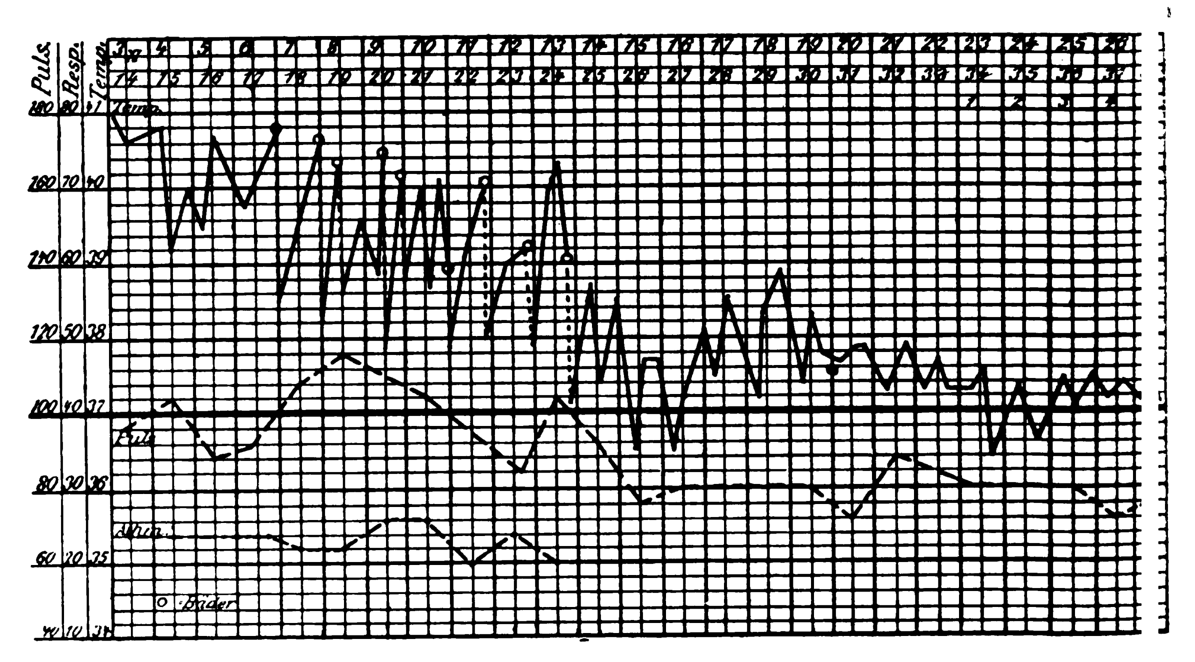


Fig. 5.

erkrankte Pat. unter Schüttelfrost mit folgendem Hitzegefühl, nachdem er sich einige Tage vorher matt und abgeschlagen gefühlt hatte. Seit dem Tage der Erkrankung bestanden Durchfälle, Leibschmerzen, Heiserkeit und grosse Mattigkeit. Bei der Aufnahme folgender Befund: Kleiner, graciler, stark abgemagerter Junge. Hohes Fieber, 40·9°. Puls klein, weich, 96. Schweres Krankheitsbild. Pat. nimmt passive Rückenlage ein, ist somnolent, giebt nur schwerfällig Auskunft. Gesichtsfarbe geröthet. Haut feucht. Rumpf, Oberschenkel und Arme sind dicht besät mit stark ausgeprägten Roseolen. Dieselben sind rosaroth central erhaben und meist über Linsen gross. Musculatur der Beine ist druckempfindlich, keine Drüsenschwellung. Lippen und Zunge trocken, letztere belegt. Pharynx geröthet, aufgelockert. Stimme heiser, Kehlkopfeingang geröthet und geschwollen.

Keine Geschwüre sichtbar, Stimmbänder frei. Thorax gracil. Athmet gleichmässig. Lungengrenzen normal. Schall sonor. Vesiculäres Athmen. Ueber beiden Lungen, namentlich Unterlappen giemende und schnurrende Geräusche. Herz nicht verbreitert. Töne sehr leise. Abdomen leicht aufgetrieben. Leberdämpfung schmal. Milz nicht palpabel, auch percussorisch nicht nachweisbar. Urin enthält Spur Eiweiss. Indican- und Diazoreaction positiv. Stuhl mehrmals dünnbreiig, gelb. Entnahme von 5 ^{ccm} Blut und Verwendung desselben zu Agarplattenculturen; am 5. XI. sind 18 gleichartige Colonieen gewachsen, bis zum 8. XI. noch 18 weitere.

6. XI. Rücken, Bauch, Brust, Oberschenkel, Oberarme, Hals dicht übersät mit Roseolen. Milz nicht palpabel. Meteorismus geringer. Abdomen an einzelnen circumscripten Stellen druckempfindlich. Stuhl angehalten. Temperatur zeigt Intermissionen. Puls ca. 100. Somnolenz besteht noch.

8. XI. Allgemeinzustand noch schwer. Geringe Cyanose. Temperatur fällt. Puls klein, 118. Auf beiden Unterlappen zähe Bronchitis. Roseolen auch im Gesicht und an den Händen. Auf der linken Tonsille zarter, grauer Belag. Decubitus. Urin enthält Spur Albumen. Menge 800 bis 1000. Stuhlgang angehalten.

12. XII. Allgemeinzustand besser. Puls voller. Temperatur fällt lytisch ab. Bronchitis geringer. Decubitus heilt. Roseolen blassen ab. Sensorium klarer.

16. XII. Aussehen frischer. Puls gut, ca. 80. Temperatur sinkt. Appetit stellt sich ein. Roseolen blassen ab. Bronchitis gering.

18. XII. Temperatur intermittirend (amphibol. Stadium). Pat. ist lebhafter. Puls gut, 80. Nur noch auf der Bauchhaut einzelne blasse Roseolen sichtbar. Diurese steigt.

24. XII. Ungestörte Reconvalescenz. Pat. ist seit gestern fieberfrei und klagt über Hunger. Roseolen verschwunden. Milz war nie palpabel. Auch percussor. niemals vergrössert nachweisbar. Die grossen Nervenstämme der Beine noch mässig druckempfindlich. Bronchitis geschwunden.

5. XII. Abgesehen von leichten Temperaturerhebungen auf 37·4°. Verlauf normal. Pat. erholt sich fortschreitend. Starker Haarausfall.

12. XII. Befinden gut. Keine Complicationen. Kräfte nehmen langsam zu.

20. XII. Pat. fühlt sich noch schwach. Keine Complicationen. An einzelnen Tagen leichte Temperatursteigerungen um $^4/_{10}$ bis $^5/_{10}$ Grad. Gute Diurese.

30. XII. Pat. ist jetzt kräftiger, steht auf. Fühlt sich wohl.

Fall VI. Ueber diesen sei vorweg bemerkt, dass die bakteriologische Untersuchung des Blutes, die leider erst am 17. VIII., 3 Tage vor völliger Entfieberung, von mir ausgeführt werden konnte, negativ ausgefallen ist. Ebenso bedauerlich ist es, dass eine bakteriologische Untersuchung der Roseolen überhaupt nicht ausgeführt werden konnte. Gleichwohl möchte

---

Anmerkung. Den Bericht über den weiteren Verlauf der Fälle I und V verdanke ich der Güte des Hrn. Oberarztes Dr. Jolasse, auf dessen Abtheilung die betreffenden Kranken von der Aufnahme-Abtheilung des Hrn. Director Prof. Lenhartz zur Behandlung übergingen.



ich diesen Fall den 5 vorerwähnten Fällen anreihen aus Gründen, die ich weiter unten gelegentlich des Berichtes über die **Gruber-Widal'sche** Reaction in unseren Fällen anführen werde.

Dr. med. K. 25 Jahre alt. Aufgenommen am 13. VIII. 1900. Derselbe hat Morbilli, Diphtherie und im 17. Jahre Influenza durchgemacht, war sonst nie krank.

Ende Juli hatte sich der Pat. eine Woche lang an der bakteriologischen Untersuchung des von unserem Fall II stammenden Bacillenstammes betheiligt.

Am 6. VIII. traten ausgesprochenes Krankheitsgefühl, Kopfschmerzen und Schläfrigkeit ein. In den nächsten Tagen nahm die allgemeine Schwäche so zu, dass Pat. am 10. VIII. collabirte und seitdem das Bett hütete. Die Temperatur betrug 38·7° (Achsel). (Vom 14. VIII. ab Rectum.)

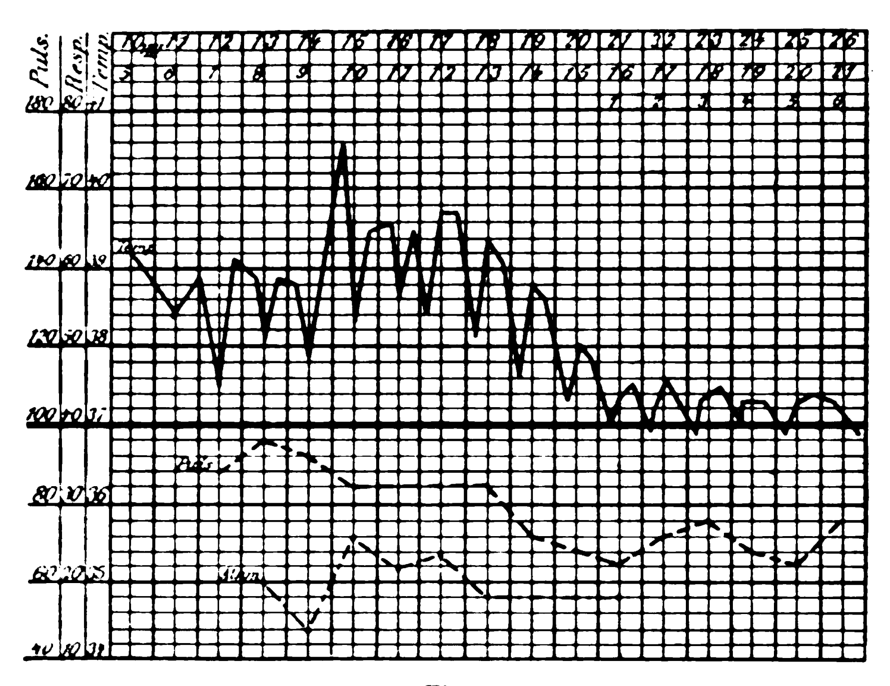


Fig. 6.

Am 13. VIII. kam er in unsere Behandlung. Sehr kräftiger Körperbau. Reichliches Fettpolster. Pat. ist verstimmt, aber völlig klar. Klagt über heftige Kopfschmerzen, Mattigkeit und Schlaflosigkeit. Gesicht etwas geröthet. Haut trocken, keine Roseolen. Zunge trocken, Rachen frei. Viel Durst, kein Appetit. Thorax gut gebaut. Grenzen normal. Sonorer Lungenschall, vesiculäres Athmen, keine Geräusche. Herz nicht verbreitert. Töne rein. Puls voll, regelmässig, 96. Abdomen leicht gewölbt, nicht druckempfindlich. Leber schneidet mit dem Rippenbogen ab. Milz nicht palpabel. Percussorisch ein wenig vergrössert. Urin frei. Stuhlgang angehalten. Befund am Nervensystem normal.

16. VIII. Das Fieber dauert in mässiger Höhe und mit remittirendem Charakter an. Der Kranke klagt über Kopfschmerzen. Der objective Befund ändert sich nicht.

17. VIII. Heute zeigen sich auf dem Abdomen zwei roseolaähnliche Efflorescenzen. Kopfschmerzen, Appetitlosigkeit und Durstgefühl bestehen noch. Befund sonst negativ.

19. VIII. Roseolen sind verblasst. Dauernde Stuhlverhaltung. Puls dicrot, 78. Allgemeinbefinden besser. Temperatur fällt lytisch ab.

21. VIII. Fieber — und abgesehen von Schwächegefühl beschwerdefrei.

30. VIII. Keine Complicationen. Der Kranke fühlt sicht durchaus wohl. Hat guten Appetit.

16. IX. Geheilt entlassen mit 3·1 kg Gewichtszunahme.

Nach Mittheilung dieser Krankengeschichten mögen einige epikritische Bemerkungen hier Platz finden.

Der erste Fall Kr. kam erst gegen Ende der Erkrankung zu uns. Die Anamnese wies entschieden auf die Möglichkeit eines Typhus abdominalis hin. Dazu passte auch der Befund bei der Aufnahme; zunächst sprachen dafür die subjectiven Beschwerden, sodann das hohe Fieber bei niedriger Pulsfrequenz, die Vergrösserung der Milz, die trockene Zunge und die Durchfälle.

Die Lungenerscheinungen rechtfertigten die Annahme einer hypostatischen Pneumonie. Es fehlten zum Bilde des Typhus abdominalis eigentlich nur die Roseolen. In wenigen Tagen trat dann lytische Entfieberung ein und Verschwinden der übrigen Krankheitserscheinungen. Es handelte sich also um einen leichten Fall.

Ein wesentlich schwereres Bild bot Fall II, Kö., dar. Der Kranke kam in der ersten Woche zur Beobachtung. Der Beginn der Erkrankung ist typisch für Typhus zu nennen. Ebenso der Befund bei der Aufnahme: Benommenheit des Sensoriums, trockene Lippen und Zunge, Roseolen auf der Bauchhaut, Bronchitis in den Unterlappen. Hohes Fieber, niedriger Puls. Leichte Nephritis. Dann Verschlimmerung des Zustandes. Delirien, Unruhe, frequenter Puls. 9 Tage lang besteht eine Continua, die Remissionen sind durch Bäder bedingt. Der schwere Allgemeinzustand hält noch an. Dann sinkt die Temperatur. Das Sensorium wird frei. Es folgt ein 6tägiges amphiboles Stadium, während dem gehen die Krankheitserscheinungen langsam zurück.

Betrachtung der Fiebercurve im Zusammenhange mit den Beschwerden und objectiven Erscheinungen lässt keinen Zweifel darüber, dass es sich um einen mittelschweren Typhusfall handelt.

Einen durchaus leichten Fall stellt der dritte Kranke, Th., dar. Dieser hatte 8 Tage seines Leidens draussen zugebracht, kam unter charakteristischen Beschwerden ins Krankenhaus. Hatte trockene Zunge, hohes Fieber, niedrige Pulsfrequenz, deutliche Roseolen. Leichten Meteorismus und



Milztumor. Bronchitis fehlte. Die Temperatur fällt sehr schnell lytisch ab. Erscheinungen schwinden. Schnelle Reconvalescenz.

Nun folgt als vierter wieder ein ziemlich leichter Fall.

Trotzdem der Patient schon ca. 3 Wochen krank und Potator ist, macht er bei der Aufnahme keinen besonders schwerkranken Eindruck. Er hatte noch während der ersten 14 Tage seiner Erkrankung gearbeitet. Das Sensorium ist leicht benommen, sonstige Erscheinungen von Delirium fehlen aber. Die Zunge ist trocken, es besteht eine leichte Bronchitis, der Puls ist etwas frequent, aber gut. Leichter Meteorismus. Einige Roseolen und nachweisbare Milzschwellung vervollständigen das Bild des Typhus abdominalis. Und so ist auch der Verlauf. Nachdem anfangs noch neue Roseolen aufgetreten waren und die Bronchitis sich verschlimmert hatte, tritt dann aber unter lytischem Fieberabfall schnelle Reconvalescenz ein.

Der schwerste Fall der mitgeteilten Krankenreihe ist der 15jährige Se. Die Krankheit war offenbar gleich von Anfang an ziemlich heftig mit Schüttelfrost, grossem Schwächegefühl, Leibschmerzen und Durchfall aufgetreten. Wenn auch ein Typhus selten mit einem Schüttelfrost einsetzt, so kommt es doch ganz zweifellos vor.

Bei der Aufnahme bot der Knabe das richtige Bild des Statuts typhosus dar. Passive Rückenlage, theilnahmlos, tiefe soporöse Benommenheit, hohes Fieber, relativ niedrige Pulsfrequenz, Druckempfindlichkeit der Beinmuskulatur, trockene Mundschleimhaut, Röthung des Kehlkopfeinganges, starke Bronchitis, Meteorismus, Durchfälle. Eiweiss im Urin, positive Diazoreaction.

Nur der Milztumor ist nicht nachweisbar. Dafür aber besteht ein ganz abnorm starkes Roseola-Exanthem, wie man es nur in äusserst seltenen Fällen zu sehen bekommt.

Die Diagnose Typhus war sicher.

In den nächsten Tagen dauert der schwere Zustand noch an. Neue Roseolen schiessen auf und zwar auch an ganz abnormen Stellen, wie am Hals, im Gesicht und an den Händen. Das Auftreten der Roseolen auf Wange, Stirn u. s. w. ist so selten, dass Curschmann annimmt, dass dort Roseolen überhaupt nicht vorkommen.

Nach einigen Tagen bildet sich auf einer Tonsille ein oberflächliches Geschwür, wie wir es auch bei Typhuskranken gesehen haben.

Als günstig sind im Verlauf die tiefen Remissionen nach den Bädern zu betrachten. Dementsprechend bessert sich auch das Allgemeinbefinden.

Der 3 wöchentlichen Continua folgt ein 8—10 tägiges amphibolisches Stadium. Die Roseolen blassen ab, auch die übrigen Erscheinungen gehen zurück. Dann recht langsame Reconvalescenz, während welcher die Haare stark ausfallen.

Trotz der eigenthümlichen Ausbreitung der Roseolen ist klinisch nie an der Diagnose Typhus gezweifelt worden.

Der letzte Fall, Dr. K., zeichnet sich durch Fehlen fast aller objectiven Symptome, mit Ausnahme des Fiebers, aus, so dass von Anfang die subjectiven Beschwerden: Kopfschmerzen, Schwindel, Hinfälligkeit das Krankheitsbild beherrschen. Die Temperatur zeigt nur mässige Steigerungen.

Eine Continua fehlt ganz, der Puls ist nicht frequent. Endlich gegen Ende das Fiebers treten 2 Roseolen auf, die bald wieder verschwinden.

Zur Diagnose Typhus drängte im klinischen Bild besonders die Erwägung, dass alle anderen Krankheiten auszuschliessen waren.

Nach diesen epikritischen Bemerkungen will ich meine Untersuchungen über Morphologie und culturelles Verhalten der aus dem Blute der Kranken gezüchteten Bacillen, und zwar der besseren Uebersicht wegen in tabellarischer Anordnung, einfügen. In einer zweiten Tabelle soll das Ergebniss der Serumreaction mitgetheilt werden.

Beim Studium der biologischen Eigenschaften der in Rede stehenden Bacillen dienten mir ein echter Typhusstamm und zwei Bacterium coli-Stämme als Testobjecte. Es scheint mir wünschenswerth, wenn ich auch die charakteristischen Merkmale dieser Stämme, sowie desjenigen, welcher von meinem früher mitgetheilten Fall herrührt, zum Vergleich mit aufführe. Es bedarf kaum der Erwähnung, dass sämmtliche Untersuchungen der einzelnen Stämme in gleicher Weise und unter Benutzung derselben Nährböden vorgenommen wurden.

Der Typhusstamm ist von mir aus dem Blute eines Typhuskranken gezüchtet. Bacterium coli-Stamm 1, in der Tabelle Hasse genannt, ist gleichfalls aus dem Blute einer Kranken gewonnen. Es handelte sich um eine puerperale Infection post abortum. Letzterer war am 8. X. 1900 erfolgt. An demselben Tage Schüttelfrost und Fieber. Manuelle Entfernung von Placentaresten. Temperatur 40°, Sensorium benommen, hochgradige Anämie. Puls klein. Meteorismus. Leib druckempfindlich. Befund sonst negativ. 9. X. Sensorium frei. Stinkender Ausfluss aus der Vagina. Diffuse Bronchitis. Leibschmerzen bestehen noch. Geringe Albuminurie, im Sedimente des Urins Cylinder. Innerhalb von 8 Tagen lytischer Abfall des intermittierenden Fiebers, Rückgang aller Symptome und Besserung des Allgemeinbefindens. Heilung.

Am 8. X. werden Culturen aus dem Uterus angelegt. Bacterium coli in Reincultur. Ferner werden 8 ^{ccm} Blut aus einer Armvene entnommen und damit 3 Agarplatten gegossen. Auf diesen entwickeln sich 24 Colonieen, deren weitere Untersuchung ergab, dass es sich um Bacterium coli handelte.



Tabelle

Stamm	Morphologie: Form	Beweglichkeit	Färbbarkeit: mit gewöhnl. Anilinfarben	nach Gram	der auf Kartoffel gezücht. Bacillen	Gelatine-Strich	Gelatine-platte	Piorkowski's Gelatine
1. Mudrow (echter Typhus)	kurze Stäbchen, einzelne Fäden	mässig lebhaft beweglich	gut	negativ	z. Th. Polfärbg. +	zarter, bläulich schimmernder Belag	nach 42 Stunden schwache Vergrösserung: Col. fast farblos, einige grösser, schwach gelblich u. fein gezeichnet. Die Oberflächen-Colonieen z. Th. weinblattförmig, weiss, zeigen deutliche radiäre strichförmige Furchung. Nach 4 Tagen Colon. grösser, leicht gelblich. Aussehen sonst unverändert	Platte 0 nach 24 bis 30 Std. bei schwach- Vergrösserung: D- einzelne Col. ersch- wie ein farblos. Fad.. dass die Platte wie m- Fädch. besät ersch-. Platte 1. Bei weite- die Mehrzahl der - farblosen Colonieen radiär oder an d. Pol- mit einem fein. Faden- geflecht besetzt. D- Fäden sind 2 bis 3fa- so lang als das m- ovale Centrum der C- Daneben finden sich wenige runde Colonieen ohne Auslau-
2. Barg (*Deutsche medicin. Wochenschrift*, 1900, Nr. 32)	wie 1	wie 1	wie 1	negativ	wie 1	wie 1	wie 1, nur fehlt bei den Oberfl.-Colonieen die strichförmige Furchung	Platte 0 nach 24 bis 30 Std. bei schwach- Vergrösserung: M- ovale, seltener run- fast farblose Colonie- deutlich als solche er- kennbar im Gegensatz zur Platte 0. Mudrow Durchweg ohne jede Fadenbildung oder Fortsatz. Platte 1. Nur rund- ovale, farblose, schar- contur., homog. C- ohne jeden Auslau-
3. Müller (Fall IV)	wie 1	lebhaft beweglich	wie 1	negativ	wie 1	nach 48 Std. wie 1, spät. dickerer Belag von weisser porzellanartig. Farbe	wie 1, auch hier fehlt fast bei allen Oberfl.-Colon. die radiär. Furchung. Ausserd. sind alle Col. bis z. 4. Tag viel zarter als 1	Platte 0 nach 24 bis 30 Std. bei schwache- Vergrösserung: Wie bei 2. (Barg.) Platte 1. Wie bei 2. (Barg)
4. Krenzin (Fall I)	wie 1	wie 3	wie 1	negativ	wie 1	nach 48 Std. weissgelbl. Belag, üppiger wie 1 bis 3, später bei auffallendem Licht von weisser porzellanartiger Farbe	nach 42 Stunden Colonieen durchweg üppiger und grösser als bei 1, erscheinen gelb und gezeichnet. Die Oberfl.-Col. zeigen k. Furchg., manche derselben sind knopfförm. u. wenig durchsch. Nach 4 Tg. ähnl., nur grösser	Platte 0 nach 24 bis 30 Std. bei schwa- Vergrösserung: Rund- ovale, kaum gelblich gefärbte Colonieen ohne Fadenkranz. Platte 1. Runde, sel- tener ovale, gelblich gekörnte Colonie- scharf conturirt, ohne Fadenkranz, etwas grösser wie 1, 2 u. 3

ulturelles Verhalten												
Agarstrich	Blutagarplatte	Bouillon	Peptonwasser	Kartoffel	Gährungskölbch. Traubenzucker-Bouillon	Neutralroth-Agar	Traubenzucker-Agar Stichcultur	Indigschwefel-saures Natron-Agar	Milch	Lackmusmolke	Indolreaction	Sauerstoff-bedürfniss
nner, rau-isser, urch-htiger ichter Belag	5 ccm Agar + 3ccm Blut nach ca. 40 Std. Die tief-liegend. Colon. schwarz-grün, steck-nadelk.-gross. D. oberfl. Colon. maus-grau u. linsen-gross	nach 48 St. mäss. trüb	nach 48 St. leicht ge-trübt	kaum sicht-barer feucht-glän-zender Belag	keine Gas-bildung	keine Gas-bildung. Farbe unver-ändert	keine Gasbil-dung	Farbe des Nähr-bodens bleibt unver-ändert dunkel-blau	Aus-sehen der Cultur monate-lang unver-ändert	nach 48 Std. und später kaum getrübt und rostroth. Säure-grad 1·6 %	nega-tiv	facul-tativ anaë-rob
sehr ünner, grau-eisser, durch-chtiger Belag	wie 1	wie 1	wie 1	wie 1	ca. 1/3 des Gäh-rungs-röhr-chens mit Gas gefüllt	nach 24 Std. ist der rothe Farb-stoff in einen gelblich. fluores-cirenden umge-wandelt. Starke Gas-bildung	nach 24 Std. deut-liche Gasbil-dung	nach 48 Std. Nähr-boden gelb (Agar-Farbe). Gas-bildung gering	Aus-sehen zunächst wie bei 1. Nach Wochen leicht trans-parent. Keine Gerin-nung	wie 1, Säure-grad 1·6 %	nega-tiv	wie 1
wie 2	wie 1	wie 1	wie 1	wie 1	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	wie 1, Säure-grad 1·4 %	nega-tiv	wie 1
wie 1, aber etwas dicker	wie 1	stark ge-trübt	wie 1	grau-braun., dicker, erha-bener Belag	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	Aussehen zunächst wie bei 1. Von der 2. b. 4. Woche hellt sich die Milch allmählich auf und ist schliessl. fast durch-sichtig. Keine Gerinnung	Anfangs wie 1, vom 10. Tag an blau-violett, schliess-lich Alkales-cenz-grad 2·8 %	nega-tiv	wie 1

Tabelle I

Stamm	Morphologie					Gelatine-Strich	Gelatine-platte	Piorkowski's Gelatine
	Form	Beweglichkeit	Färbbarkeit					
			mit gewöhnl. Anilinfarben	nach Gram	der auf Kartoffel gezücht. Bacillen			
5. Köcher (Fall II)	wie 1	wie 3	wie 1	negativ	wie 1	wie 4	wie 4	Platte 0 nach 24 b 30 Stunden, schwac Vergrösserung: wie bei 4. Platte 1 wie bei 4
6. Thot (Fall III)	kurze Stäbchen, zahlreiche Fäden	sehr lebhaft	wie 1	negativ	wie 1	wie 4	wie 4	Platte 0 nach 24 b 30 Stunden, schwac Vergrösserung: wie bei 4. Platte 1 wie bei 4 Eine Colonie ebenfal scharf conturirt, zei einige kurze, faden-ähnliche Ausläufer
7. Seemann (Fall V)	sehr kurze Stäbchen, einzelne Fäden	lebhaft	wie 1	negativ	wie 1	wie 4	wie 4 nur ein wenig zarter	Platte 0 nach 24 b 30 Stunden, schwac Vergrösserung: wie bei 4. Platte 1 wie bei 4. Ausserdem finden sic eine Anzahl unrege-mässig conturirter, geknäulter und mi plumpen Auswüchse versehener Colonieen
8. Hasse, Bact. coli. (Puerperale Sepsis)	sehr kurze, an den Enden abgerund. Stäbchen, einzelne Fäden	träge	wie 1	negativ	keine Polfärbg.	zarter, bläulich schimmernder Belag	ähnlich wie 4, doch nicht so gelb gefärbt. Einige Oberfl.-Colonieen zeigen radiäre Furchung angedeutet, doch nicht so ausgesprochen wie 1 (Mudrow)	Platte 0 nach 24 bi 30 Stunden, schwach Vergrösserung: leich gelblich gefärbte Colo-nieen, meist oval wi bei 4. Wenige gleiche denen von Fall I (Mudrow). Platte 1. Gelbe, runde mehr oder weniger ge-körnte Colonieen, meist scharf conturir Eine Anzahl mit Fäde besetzt, von denen nich alle mit Sicherheit vo Colonieen Mudrow (Typhus) zu unterscheiden sind
9. Bact. coli. Laborator.	kurze Stäbchen, einzelne Fäden	mässig lebhaft	meist läng. Stäbchen als bei 1	negativ	wie 8	wie 8	wie 8	Platte 0 nach 24 bi 30 Stunden, schwach Vergrösserung: wie bei 8. Platte 1 wie bei 8.

ortsetzung.)

lturelles Verhalten												
Agarstrich	Blutagarplatte	Bouillon	Peptonwasser	Kartoffel	Gährungskölbch. Traubenzucker-Bouillon	Neutralroth-Agar	Traubenzucker-Agar Stichcultur	Indigschwefelsaures Natron-Agar	Milch	Lackmusmolke	Indolreaction	Sauerstoffbedürfniss
e 4	wie 1	wie 4	wie 1	wie 4	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	wie 4	wie 4, Alkalescenzgrad 2·4 %	neg tiv	wie 1
e 4	wie 1	wie 4	wie 1	wie 4	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	wie 4	wie 4, Alkalescenzgrad 1·8 %	negativ	wie 1
ie 4	tiefliegende Colonie wie 1, die oberflächl. zeigen ein helleres Grau	wie 1	wie 1	wie 4	wie 2	wie 2	wie 2	wie 2	wie 4, Klärung nicht völlig so intensiv	wie 4, Alkalescenzgrad 2·4 %	negativ	wie 1
rau-eisser elag, ckner wie bis 7	wie 1	wie 4	wie 1	wie 4	wie 2	wie 2	wie 2	nach 24 Std. Gasbildung, nach 48 Std. Nährboden gelb	nach 48 Std. Milch völlig geronnen	nach 24 Std. stark getrübt und geröthet Bodensatz. Säuregrad 3 %	positiv	wie 1
ie 8	wie 1	wie 4	wie 1	wie 4	wie 2	wie 2	wie 2	nach 24 Std. Gasbildung u. Nährboden gelb	wie 8	wie 8, Säuregrad 2·8 %	positiv	wie 1

Tabelle II.

Serum	Stamm	1 : 10 000	1 : 1000	1 : 100	1 : 50	1 : 33	Serum	Stamm	1 : 10 000	1 : 1000	1 : 100	1 : 50	1 : 33
eines	Mudrow	—	+	+	+	+	Müller	Mudrow	—	—	—	—	—
Typhus-	Barg	—	—	—	—	—	vom	Barg	—	—	+	+	+
kranken.	Müller	—	—	—	—	—	24. XI. 1900.	Müller	—	—	+	+	+
3. XII. 1900.	Krenzin	—	—	—	—	+	43. Krank-	Krenzin	—	—	+	+	+
	Köcher	—	—	—	—	—	heitstag	Köcher	—	—	+	+	+
	Thot	—	—	—	—	—		Thot	—	—	+	+	+
	Seemann	—	—	—	—	—		Seemann	—	—	+	+	+
	Hasse	—	—	—	—	+		Hasse	—	—	—	+	+
	Bact. coli	—	—	—	+	+		Bact. coli	—	—	+	+	+
Krenzin	Mudrow	—	—	—	—	—	Köcher	Mudrow	—	—	—	—	—
vom	Barg	—	—	+	+	+	vom	Barg	—	—	—	—	—
3. VIII. 1900.	Müller	—	—	—	—	—	17. VIII. 1900.	Müller	—	—	—	—	—
28. Krank-	Krenzin	—	—	+	+	+	35. Krank-	Krenzin	+	+	+	+	+
heitstag	Köcher	—	+	++	++	++	heitstag	Köcher	+	+	+	+	+
	Thot	—	—	++	++	++		Thot	—	+	+	+	+
	Seemann	—	+	++	++	++		Seemann	+	+	+	+	+
	Hasse	—	—	—	—	—		Hasse	—	—	—	+	+
	Bact. coli	—	—	+	+	+		Bact. coli	—	—	+	+	+

Tabelle II. (Fortsetzung.)

Serum	Stamm	1:10 000	1:1000	1:100	1:50	1:33	Serum	Stamm	1:10 000	1:1000	1:100	1:50	1:33
Thot	Mudrow	—	—	—	—	—	Seemann	Mudrow	—	—	—	—	—
vom	Barg	—	—	—	+	+	vom	Barg	—	—	+	+	+
31. VIII. 1900.	Müller	—	—	—	+	+	19. XI. 1900.	Müller	—	—	+	+	+
16. Krank-	Krenzin	+	+	+	+	+	30. Krank-	Krenzin	—	+	++	++	++
heitstag	Köcher	—	+	+	+	+	heitstag	Köcher	—	+	++	++	++
	Thot	+	+	+	+	+		Thot	—	+	++	++	++
	Seemann	—	+	+	+	+		Seemann	+	+	++	++	++
	Hasse	—	—	—	—	—		Hasse	—	—	—	—	—
	Bact. coli	—	—	—	—	+		Bact. coli	—	—	+	+	+
Dr. K.	Mudrow	—	—	—	—	—	Hasse	Mudrow	—	—	—	—	—
vom	Barg	—	—	—	—	—	vom	Barg	—	—	—	—	—
14. VIII.	Müller	—	—	—	—	—	25. X. 1900.	Müller	—	—	—	—	—
9. Krankheits- tag, und	Krenzin	—	—	+	+	+	18. Krank-	Krenzin	—	—	—	—	—
7. XII. 1900.	Köcher	—	—	+	+	+	heitstag	Köcher	—	—	—	—	—
119 Tage	Thot	—	—	+	+	+		Thot	—	—	—	—	—
nach Beginn	Seemann	—	—	+	+	+		Seemann	—	—	—	—	—
der Krankheit	Hasse	—	—	—	—	—		Hasse	—	—	+	+	+
	Bact. coli	—	—	—	+	+		Bact. coli	—	—	+	+	+



Bacterium coli-Stamm 2 ist der Sammlung des Laboratoriums entnommen.

Die Identität der auf den Blutplatten der einzelnen Personen gewachsenen Colonieen wurde durch eingehendere culturelle Prüfung der meisten Colonieen bei Fall II und V, sämmtlicher Colonieen bei Fall III und IV festgestellt, so dass nicht angenommen werden kann, dass neben den unten zu beschreibenden Bacillen auch Typhuscolonieen gewachsen sind. (Siehe Tabellen I und II.)

Bezüglich der morphologischen Eigenschaften der Stämme ist zu bemerken, dass diese sich nur unwesentlich von einander unterscheiden. Die Bacillen 3, 4, 5, 6, 7 sind schneller beweglich als Typhusbacillen und Bacterium coli.

Auf Gelatine bieten Brg. und Mül. ein dem Typhusbacillus sehr ähnliches Wachsthum. Der Belag ist im Ganzen zarter, während 4, 5, 6 und 7 üppiger als Typhus wachsen, namentlich zeigen ihre Culturen nach mehreren Tagen ein deutlich differentes Aussehen, der Belag ist dicker und porzellanartig weiss, so dass die Culturen ohne Schwierigkeit sowohl von Typhus als von Bacterium coli zu unterscheiden sind. Ich habe ein derartiges Wachsthum bei den letztgenannten Bakterien nie beobachtet. (Nur einmal erinnere ich mich, vor Jahren im hygienischen Instiute der Universität Greifswald ein ähnliches Wachsthum bei Bacillen beobachtet zu haben, welche von mir aus dem Wasser gezüchtet waren. Die speciellen Wachsthumseigenthümlichkeiten sind mir aber nicht mehr gegenwärtig, jedenfalls waren es keine Typhusbacillen.)

Auch mikroskopisch weicht offenbar in Folge des üppigen Wachsthumes auf der Gelatine das Aussehen der Colonieen von Stamm 4—7 wesentlich von dem der Stämme 1—3 ab.

Sehr interessant war das Studium der verschiedenen Stämme auf der 3·3procentigen alkalischen Harngelatine (Piorkowski). Die Colonieen des Typhusstammes traten auf der Platte (1 Verdünnung) in grösster Mehrzahl in der von dem genannten Autor angegebenen Form auf, nur wenigen fehlten die borstenähnlichen Ausläufer. Auch die Originalplatte gewährte ein ganz charakteristisches Aussehen, obwohl Ausläufer nicht deutlich zu erkennen waren, offenbar weil die Colonieen zu dicht standen. Diese selbst waren schmal und länglich, glichen kleinen Fädchen.

Ganz anders die Colonieen der Stämme 2—7. Auf der Originalplatte waren die Colonieen deutlich ovoid oder rund, ebenso auf der Platte 1 (1 Verdünnung). Auf den Platten der Stämme 2—5 fand ich trotz genauer Durchsicht überhaupt keine Colonieen, welche Unregelmässigkeiten in der Contur dargeboten hätten, und bei 6 und 7 traf ich nach langem Suchen ein paar Colonieen, welche kurze Ausläufer längs der Peripherie der Colonie



aussandten. Dagegen sah ich bei den Bacterium coli-Stämmen eine grössere Zahl von Colonieen mit kurzen Fäden oder gröberen Ausläufern versehen, wenn auch die Mehrzahl der Colonieen dieselben entbehrte. Jedenfalls steht so viel fest, dass einige Colonieen manchen der Typhusplatte so ähnlich sahen, dass eine sichere Unterscheidung nicht möglich war.

Nach diesem Befunde müssen wir sagen, dass noch mehr als Bacterium coli sich unsere Stämme 2—7 auf dem Piorkowski'schen Nährboden von den Typhusbacillen unterscheiden. Dabei möchten wir besonders hervorheben, dass also die Harngelatine in Krankheitsfällen unserer Art für den Nachweis der Krankheitserreger in den Faeces keine Vortheile vor den gewöhnlichen Nährböden bietet. Wir kommen auf diesen Punkt später noch zurück.

Uebrigens haben wir auch Culturversuche mit gewöhnlicher, schwach alkalischer 5procentiger Gelatine ohne Harnzusatz angestellt und gefunden, dass auch auf dieser sämmtliche Stämme ein ganz ähnliches Wachsthum wie auf der Harngelatine zeigen.

Dieses Resultat deckt sich mit den Erfahrungen von Wittich, Georg Meyer, Scholz und Krause.

Auf Agar unterscheiden sich 2 und 3 von Typhus nur dadurch, dass sie einen dünneren Belag bilden, während 4—7 üppiger wie Typhus wachsen. Das Condenswasser ist stark getrübt. Ueber das Aussehen der Colonieen auf den Blutplatten haben wir oben schon Mittheilung gemacht. Die Colonieen der Stämme 2—7 traten hier in derselben Zeit auf wie beim Typhus, und zwar pflegen sich schon nach 26—30 Stunden die ersten Colonieen zu zeigen, aber erst nach Ablauf von 3—4 Tagen erscheinen für gewöhnlich neue Colonieen nicht mehr.[1]

Bouillon und Peptonwasserculturen bieten nichts Bemerkenswerthes.

Erhebliche Unterschiede weisen wieder die Kartoffelculturen auf. Sämmtliche Stämme wurden auf Scheiben derselben Kartoffel gezüchtet. Dabei zeigten Stamm 2 und 3 das für Typhusbacillen typische, feucht glänzende, kaum sichtbare Wachsthum, während 4—7 genau wie die Bacterium coli-Stämme 8 und 9 einen dicken gelbbraunen Belag zeitigten.

Ganz besonders hervorgehoben zu werden verdient die Fähigkeit der Stämme 2 bis 7, bei Züchtung in Traubenzuckerbouillon Gasbildung hervorzurufen. In diesem Punkte gleichen sie ebenfalls den Bacterium coli-

[1] Auerbach und Unger, welche in Nr. 49, Jahrg. 1900, der *Deutschen med Wochenschrift* auf meine Arbeit in Nr. 32 dieser Wochenschrift zu sprechen kommen haben meine Angaben bezüglich des Wachsthums der Colonieen in den Blutplatten wohl missverstanden. Nicht nach ca. 4 Tagen, sondern am 2. Tage gestatteten die Blutagarplatten die Diagnose, wie auch aus meiner damaligen Mittheilung deutlich zu ersehen ist.



Stämmen. Dementsprechend ist auch bei Stichculturen in Zuckeragar reichliche Blasenbildung wahrzunehmen. Aber auch schon bei Züchtung in gewöhnlichem Agar war Gasbildung durch Auftreten von Bläschen erkennbar.

Der Vollständigkeit halber verwandte ich auch den von Rothberger angegebenen und von Scheffler warm empfohlenen Neutralrotagar, und zwar erwies sich uns die Schüttelcultur zweckmässiger als die Stichcultur. Gleichwie die Bacterium coli-Stämme verwandelten unsere Stämme 2 bis 7 nach 24, höchstens 48 Stunden den dunkelrothen Farbstoff in einen schön gelbgrünfluorescirenden. Der Agar war durch Gasbildung zerrissen. Die Typhuscultur blieb unverändert, trotz reichlichen Wachsthumes.

Um die Reductionsfähigkeit unserer Stämme zu prüfen, züchteten wir sie auch in Agar, der mit 0·5 procentigem indigschwefelsaurem Natron (Kitasato und Weyl) versetzt war.

Der echte Typhusstamm führte keine Veränderung des Substrates herbei, Stamm 2 bis 7 dagegen entfärbte den schwarzblauen Nährboden nach 24 bis 48 Stunden. Es zeigten sich nur wenige Gasbläschen, während die Bacterium coli-Stämme ausser Entfärbung zahllose Gasbläschen hervorriefen.

Zu einer bemerkenswerthen Beobachtung führte uns die Anlegung von Milchculturen. Wie es die Regel ist, blieb die Typhus-Milchcultur dauernd äusserlich unverändert, während das Bacterium coli nach 48 Stunden die Milch völlig zum Gerinnen gebracht hatte. Dahingegen konnte man an den Culturen der Stämme 2 bis 7 nach Verlauf von 1 bis 2 Wochen eine deutliche Veränderung des Nährsubstrates beobachten, ohne dass auch nur eine Andeutung von Gerinnung eingetreten wäre.

Allmählich hellte sich nämlich die Milch auf; in den ersten 8 Tagen wie die Typhuscultur völlig undurchsichtig, wurde sie dann zuerst durchscheinend, dann heller und heller, bis sie in eine leicht gelblich tingirte, fast durchsichtige Flüssigkeit verwandelt war. Nur an der Oberfläche, namentlich am Glase, blieb eine weissliche, rahmartige Schicht. In der Kuppe des Culturröhrchens fand sich ein geringes Sediment.

Ich habe über diese Veränderung der Milch durch gewisse Bacterienstämme in den bekannteren Lehrbüchern und einschlägigen Arbeiten Angaben nicht finden können.

Ich erkläre mir den Vorgang durch die Eigenschaft der Stämme 2 bis 7, durch längeres Wachsthum in Milch dieselbe alkalisch zu machen. In der That zeigte die Milch der Stämme 2 bis 7 eine deutliche alkalische Reaction, und zwar eine viel stärkere, als die der Typhuscultur. Und wiederum war der Grad der Alkalescenz der Stämme unter einander nicht gleich. Vielmehr fiel die Reaction bei 2, 3 und 7 weniger stark aus, und

gerade bei diesen Stämmen war die geschilderte Umwandlung der Milch weniger intensiv eingetreten, als bei 4, 5 und 6. Darin findet, meine ich, die Annahme, welche uns aus der Chemie als Thatsache bekannt ist, dass die Klärung auch hier durch eine Lösung des Caseïns, in Folge der Bildung von Alkali, eintritt, eine weitere Stütze.

Während sich uns so sämmtliche neuen Stämme als Alkalibildner erweisen, macht sich bei Züchtung in Petruschky'scher Lackmusmolke ein Unterschied bemerkbar.

In diesem Medium verhalten sich nämlich die Stämme 2 und 3 wie Typhusbacillen (vgl. Tabelle I), d. h. die Molke wird gesäuert und nimmt dauernd eine postrothe Färbung an. Dahingegen führen die Stämme 4 bis 7, nachdem sie zwar anfangs auch die Lakmusmolke geröthet haben, nach Ablauf von ca. 10 Tagen eine Umwandlung des rothen Farbstoffes in einen blauvioletten herbei. In Bezug auf den Petruschky'schen Nährboden haben also die Stämme 2 und 3 ebenso wie Typhus in Bacterium coli als Säurebildner zu gelten, die Stämme 4 bis 7 als Alkalibildner. Der Grad der Ansäuerung wurde durch Titrirung mit $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge bestimmt, der der Alkalescenz durch Ausgleich mit $^1/_{10}$ Normal-HCl festgestellt.

Die Lakmusmolke wurde von mir nach Vorschrift hergestellt; die von Grübler-Leipzig bezogene gab dieselben Resultate.

Es war mir bisher nicht möglich, Untersuchungen anzustellen, ob noch andere Mikroorganismen eine ähnliche Umwandlung der Milch herbeiführen, wie die Stämme 4 bis 7, es dürfte aber ganz interessant sein, namentlich die Alkalibildner im Sinne Petruschky's darauf hin zu prüfen.

Die Indolreaction fiel bei sämmtlichen Stämmen 1 bis 7 sowohl mit Bouillon, als Peptonwasserculturen negativ aus, während sich die entsprechenden Coliculturen (8 und 9) bei Zusatz der bekannten Reagentien hochroth färbten. Die Reaction wurde mit 4 Tage alten Culturen vorgenommen.

Die neuen Stämme erwiesen sich wie Typhus und Bakterium coli als facultative Anaëroben.

Vergleichen wir jetzt die verschiedenen neuen Stämme mit Typhus einerseits, Bacterium coli andrerseits, so müssen wir sagen, dass dieselben mit Sicherheit keine Typhusbacillen sind, ebensowenig berechtigt ist man aber auch, sie als Bacterium coli anzusprechen.

Sie nehmen offenbar eine Mittelstellung ein. Ferner bestehen zwischen den Stämmen 2 und 3 (Barg, Müller) einerseits, 4 bis 7 (Krenzin, Köcher, Thot, Seemann) andererseits wichtige Culturunterschiede — Wachsthum auf Gelatine, auf Kartoffeln, Verhalten in Lackmusmolke —, so dass es mir geboten erscheint, die neu gefundenen Stämme in zwei



allerdings nahe verwandte Gruppen, entsprechend der eben angeführten Aufzählung, zu scheiden.

Wenden wir uns nun zur Betrachtung der Gruber-Widal'schen Reaction in unseren Fällen, so scheint es mir zunächst wichtig, zu bemerken, dass die Tabelle II nur einen Theil meiner diesbezüglichen Untersuchungen wiedergiebt, insofern ich noch mit dem Serum einer Reihe von anderen Typhus- und sonstigen Kranken die specifische Reaction anstellte. Im Wesentlichen gaben sie aber dasselbe Resultat, so dass die in der Tabelle II wiedergegebenen Protocolle als Schema gelten können.

Das Serum des Typhuskranken agglutinirte Typhusbacillen in ziemlich starker Verdünnung, blieb aber indifferent bei sämmtlichen anderen Stämmen, mit Ausnahme der Bacterium coli-Stämme. Nun, über diese Thatsache, dass Thyphusserum auf Bacterium coli einen agglutinirenden Einfluss ausübt, sind wir ja seit den Untersuchungen Stern's und anderer Autoren unterrichtet, die Erfahrung hat aber gelehrt, dass dadurch die Geltung der Specifität der Gruber-Widal'schen Reaction im Allgemeinen für Typhus keine Einbusse erleidet.

Betrachten wir nun zunächst die Einwirkung des Serums der Kranken Krenzin, Köcher, Thot, Seemann auf die verschiedenen Stämme so weisen die Protocolle eine hervorragende agglutinirende Wirkung der einzelnen Sera sowohl auf die Bacillen gleichen Namens, wie gegenüber den anderen Vertretern dieser engeren Gruppe nach. Dort, wo in der Tabelle zwei + Zeichen notirt sind, ist die Reaction unmittelbar mit Aufhebung auch der geringsten Eigenbewegung der Bacillen eingetreten. Im Allgemeinen ist ein positiver Ausfall der Reaction dann angenommen, wenn die charakteristische Häufchenbildung nach spätesten 3 bis 4 Stunden vorhanden und die Eigenbewegung der Bacillen völlig oder fast ganz aufgehoben war. Meist jedoch bedurfte es dazu kürzerer Zeit.

Wie die Tabelle weiter lehrt, haben die Sera von Thot und Seemann auch auf die Stämme Müller und Barg, Serum Krenzin auf Barg allein eine agglutinirende Wirkung ausgeübt, allerdings in wesentlich geringerem Maasse als gegenüber den Stämmen ihrer Gruppe. Auch abgesehen davon, dass die Häufchenbildung nur bis zu einer Concentration von 1:100 auftrat, zeigte die Betrachtung des hängenden Tropfens die Eigenthümlichkeit, dass zwar eine sichere Häufchenbildung eingetreten war in (Controlpräparaten fehlten stets Häufchen), dass aber die Beweglichkeit der Bacillen, sowohl der zu Häufchen geballten, als der einzelnen, welche noch isolirt waren, nicht ganz aufgehoben war; so kam es, dass manche Häufchen selber eine tanzende Bewegung ausführten.

Es mag hier wohl der Einwand erhoben werden, dass es sich nach dieser Schilderung überhaupt nicht um einen positiven Ausfall der Serum-



reaction gehandelt hat. Ich glaube, dass dies in einem gewissen Grade doch der Fall ist, denn ein ähnliches Verhalten der Bacillen zum Serum wurde in den von uns als negativ bezeichneten Proben nie gefunden, und auch die Controlpräparate zeigten keine Spur von Häufchenbildung. Eine specifische Einwirkung des Serums auf die angeführten Bacillen hatte also zweifellos stattgefunden (vgl. Alfons Fischer[1]).

Die Typhusbacillen blieben durchweg unbeeinflusst von dem Serum der Kranken dieser Gruppe.

Gegenüber dem Bacterium coli verhielt es sich ebenso wie das Typhusserum. Von dem Kranken Barg stand uns leider Serum nicht mehr zur Verfügung, wir konnten daher nur noch das Serum von Müller einer Prüfung unterziehen. Dasselbe agglutinirte unsere sämmtlichen Stämme 2 bis 7 in mässigem Grade, negativ fiel die Reaction gegenüber Typhusbacillen aus.

Es erhebt sich nun die Frage, darf die Widal'sche Reaction der Sera Krenzin, Thot, Seemann gegenüber Stamm Barg bezw. Müller einerseits und des Serums Müller gegenüber den Stämmen 2 bis 7 andererseits als ein specifisches angesehen werden, oder ist sie auf die Stufe der Reactionen bei Bacterium coli zu setzen. Ich möchte ihr doch die Specifität nicht absprechen, und zwar deswegen, weil viele andere Sera auf die Stämme 2 bis 7 niemals eine agglutinirende Wirkung ausgeübt haben, während bei meinen Untersuchungen die verschiedensten Sera auf Bacterium coli mehr oder weniger stark einwirkten. — Soviel ist aber aus dem Vergleich der Serumprüfung ersichtlich, dass auch nach dem Ausfalle dieser Reaction ein gewisser Unterschied zwischen Stamm Barg, Müller einerseits Krenzin, Köcher, Thot, Seemann andererseits besteht, der ja auch beim Vergleich des culturellen Verhaltens der in Rede stehenden Stämme zum Ausdruck gekommen ist.

Gleichwohl sind die culturellen Unterschiede nicht derartig, dass sie die beiden Gruppen weit von einander trennen, so dass das Princip der Specifität der Serumreaction unseres Erachtens durch die gemachten Beobachtungen nicht erschüttert, sondern vielmehr gestützt wird. Man kann sich doch vorstellen, dass zwei sehr nahe verwandte Bakterien, wenn sie als Krankheitserreger auftreten, im Serum ihres Kranken ebenfalls wieder nahe verwandte Stoffe (Agglutinine) hervorrufen, die bis zu einem gewissen Grade der Einwirkung auf die Bacillen des anderen Kranken fähig sind.

Fussend auf dieser Anschauung haben wir unseren Krankheitsfällen, in denen die Blutuntersuchung den Nachweis erbrachte, dass die Krankheit nicht durch Typhusbacillen, sondern durch eine scharf von diesen zu

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXII. S. 415.

trennende Bakteriengruppe hervorgerufen wurde, einen Fall (Beobachtung VI) hinzugefügt, bei dem die Serumreaction die Zugehörigkeit des Falles zu dieser Gruppe von Erkrankungen bewiesen hat.

Das Serum Dr. K. nämlich agglutinirte Stamm Krenzin, Köcher, Thot und Seemann im Verhältniss von 1:100, während es alle übrigen Stämme, namentlich Typhusstämme, völlig unbeinflusst liess. Dieser Ausfall der Widal'schen Reaction war uns bezüglich der Diagnose ausserordentlich interessant, da zwar nach dem Krankheitsbilde Typhus angenommen werden musste, aber jede Erklärung fehlte, wie die Infection zu Stande gekommen sein sollte. Von der Thatsache, dass der College mit einem unserer Stämme gearbeitet hatte, erhielten wir erst nach Anstellung der Serumreaction Kenntniss. Dieser Fall erhellt, wie wichtig es in ähnlichen Fällen sein kann, dann, wenn die klinischen Symptome für Typhus sprechen, die Widal'sche Reaction gegenüber Typhusbacillen aber negativ ausfällt und aus äusseren Gründen eine culturelle Blutuntersuchung nicht gemacht werden kann, die Serumreaction auch mit Bacillen unserer Gruppe anzustellen.

Gewiss sind noch Bestätigungen dieser Auffassung über den Werth der Serumreaction bei Fällen unserer Gruppe abzuwarten, die Wahrscheinlichkeit spricht aber aus den oben schon angeführten Gründen dafür, dass die Serumreaction sich bei Krankheitsfällen unserer Art wie bei Typhuskranken verhält und nicht werthlos ist, wie Bacterium coli gegenüber. Gleichwohl stimme ich Sternberg völlig bei, dass seine Untersuchungen, wonach Typhusimmunserum einen Bacillus, der nach seinem culturellen Verhalten nicht als Typhusbacillus anzuerkennen war, noch in starker Verdünnung agglutinirte, geeignet erscheinen, der Specifität der Agglutination einigermaassen Eintrag zu thun, doch wäre es wünschenswerth gewesen, dass dieser Autor darüber berichtet hätte, ob die von ihm im Wasser gefundenen Bakterien nicht auch der Einwirkung anderer Sera als eines Typhusimmunserum ausgesetzt sind. Ferner wäre es immerhin von Interesse gewesen, zu erfahren, in welchem Grade das Serum der immunisirten Kaninchen vor der Infection mit den Wasserbacillen Typhusbacillen agglutinirt hat.

Auch schon vor der Arbeit Sternberg's ist von einigen Autoren (Gruber und Durham) und von französischen Forschern nachgewiesen, dass Typhusserum den Bacillus enteridis Gärtner's bezw. den Nocard'schen Bacillus agglutinirt, allerdings bestehen solche graduelle Unterschiede, dass die betreffenden Forscher die Specifität der Serumreaction nicht dadurch für beeinträchtigt halten.

Den Befund, dass das Serum der an Coliinfection erkrankten Frau Hasse ihren eigenen Stamm am kräftigsten agglutinirte, alle übrigen Stämme weniger, registriren wir, ohne ihm einen besonderen Werth bei-

zumessen, da ja eine gleich starke Reaction auch durch das Serum anderer Kranken hervorgerufen wurde.

Ueber das Vorkommen unserer Bacillen ist eine sichere Angabe nicht zu machen. Es unterliegt ja wohl keinem Zweifel, dass die fraglichen Bacillen häufiger vorkommen, da wir in kurzer Zeit 5 Fälle, die sicher nicht mit einander zusammen hängen, beobachten konnten.

Bei Durchsicht der in Flügge's Werk von Kruse aufgezählten Bacillen könnten aus der Gruppe XV der Bacillus monadiformis, Bac. Breslaviensis, Bac. Friedebergensis und Bac. morbificaus bovis wohl mit unserem Stamme 2 und 3 identisch sein. Ferner beschreibt Sternberg bei seinen Stämmen KB, WL und Kas Eigenschaften, die sich in den wesentlichsten Punkten mit dem Charakter ebenfalls der Stämme 2 und 3 decken, so dass dieser Autor vielleicht dieselben Bacillen aus dem Wasser gezüchtet, die ich als Krankheitserreger nachgewiesen habe.

Für die Gruppe 4 bis 7 habe ich Paradigmen in der mir zugänglichen Litteratur mit Sicherheit nicht finden können. Der Bacillus faecalis alkaligenes Petruschky ist jedenfalls mit den Bakterien dieser Gruppe nicht identisch.

Die vorstehende Mittheilung beweist, dass also unter den bisher als Typhus angesehenen Krankheitsfällen eine Anzahl einbegriffen wurde, die nicht durch den Typhusbacillus hervorgerufen worden ist. Der Procentsatz ist nicht unerheblich. Im Jahre 1900 kamen im Krankenhaus St. Georg in Hamburg 69 Fälle von Typhus einschliesslich der hier aufgezählten zur Beobachtung, davon nehmen nach meinen vorstehenden Untersuchungen 6 eine Sonderstellung ein; das bedeutet 8 Procent. Vom epidemiologischen Gesichtspunkte aus betrachtet, sind unsere Fälle sämmtlich als sporadische anzusehen, die in den verschiedensten Stadtteilen auftraten, dort nicht mit anderen ähnlichen Typhusfällen und, wie schon bemerkt, auch nicht unter einander in irgend welcher Beziehung standen.

Wie die Infection zu Stande kam, woher die Krankheitserreger stammten, ist nicht nachweisbar gewesen. Ich habe schon in meiner ersten Arbeit der Vermuthung Raum gegeben, dass die Infectionskeime vielleicht dem Wasser entstammen. Die Beobachtung Sternberg's (s. o.) wäre vielleicht geeignet, diese Annahme zu stützen, falls unsere Bacillen mit denen Sternberg's identisch sind.

Ich habe mir nun die Frage vorgelegt, ob die angeführten Krankheitsfälle, nachdem einmal ihr bakterieller Ursprung festgestellt ist, trotz aller Aehnlichkeit mit wirklichen Typhusfällen doch nicht auch in klinischer Beziehung Besonderheiten bieten. Zunächst wäre ja da als charakteristisch zu berücksichtigen, dass es sich bisher wenigstens um sporadische Fälle gehandelt hat, dass keiner derselben einer Epidemie angehört. Dem Um-



stande, dass die Krankheitsfälle nur Männer betraf, ist wohl keine Bedeutung beizulegen, denn wir sehen hier stets wesentlich mehr typhuskranke Männer als Frauen.

Bezüglich der Krankheitssymptome ist zu bemerken, dass hier nur Fall Seemann Besonderes bot, insofern auch Roseolen im Gesichte auftraten, was ja nach Curschmann bei Typhus nicht vorkommen soll; ich enthalte mich des Urtheiles, ob dieser Anomalie ein Unterscheidungsmerkmal gegeben ist, und überlasse die Entscheidung weiteren Beobachtungen. Trotz der Schwere des Krankheitsbildes, welches Fall I und V anfänglich darboten, ist der Verlauf doch als ein günstiger zu bezeichnen, bei allen Patienten fehlten schwerere Complicationen. Niemals trat ein Recidiv auf, die wir bei unseren wirklichen Typhusfällen hier sehr häufig sehen. Die übrigen Fälle sind als leichte Erkrankungen anzusprechen, trotzdem der eine Patient (Müller) ein ausgesprochener chronischer Alkoholist (er war Weinküper! in Hamburg) und ein anderer Patient 60 Jahre alt war. Die Alkoholisten hält Curschmann nach seiner reichen Erfahrung für sehr gefährdet, wenn sie an Typhus erkranken, ebenso ernst stellt er die Prognose bei Typhuspatienten, welche, wie unser Patient Krenzin, dem Greisenalter angehören.

Unter allem Vorbehalte weiterer Beobachtung möchte ich also glauben, dass bei Krankheitsfällen unserer Art die Prognose günstiger ist als bei wirklichem Typhus. Dafür scheint mir auch Folgendes zu sprechen: Seit dem von Gaffky geführten Nachweise, dass der Typhusbacillus als Erreger der so benannten Krankheit anzusehen ist, sind zahllose Untersuchungen an Typhusleichen ausgeführt, die alle die Angaben von Gaffky bestätigten; mir ist kein Fall mit Sicherheit bekannt geworden, bei dem aus den Organen post mortem Bacillen gezüchtet sind, die sich in wesentlichen Punkten von dem Typhusbacillus unterschieden hätten.

Wenn auch sicher nicht alle Untersucher in früheren Jahren die erst im Laufe der Zeit stattlich angewachsenen Differenzirungsmethoden angewandt haben, so glaube ich doch, dass falls Fälle unserer Art häufiger gestorben wären, hier und da einmal die Abnormität der Krankheitserreger erkannt wäre.

Es scheint also auch von diesem Gesichtspunkte aus die Prognose unserer Fälle günstiger zu sein, als die wirklicher Typhen. Wenn dem aber so ist, so geht daraus ein weiterer praktischer Werth für die möglichst frühzeitige Erkennung solcher Fälle hervor.

Das kennzeichnet die Wichtigkeit des Bacillennachweises. Wie schon oben bemerkt, kommt bei unseren Fällen die Verwendung der Piorkowki'schen oder der gewöhnlichen niedrig procentigen Gelatine nicht in Frage.

Es ist höchst wichtig zu wissen, dass es Fälle von typhusähnlichem Verlaufe giebt, bei denen die Faecesuntersuchung mit den genannten Nährböden das Resultat wie bei wirklichen Typhusfällen überhaupt nicht geben kann, da sonst ein mehrmaliger negativer Ausfall der Faecesuntersuchung auf vermuthete Typhusbacillen leicht den Diagnostiker irreleiten kann. Ebenso wie man sich, um diagnostischen Irrthümern zu entgehen, bei Ausführung der Widal'schen Reaction, falls sie bei sehr typhusverdächtigen Kranken negativ ausfällt, an die Möglichkeit erinnern muss, dass die fragliche Krankheit auch durch Bacillen unserer Art hervorgerufen werden kann.

Hier ist die bakteriologische Blutuntersuchung von noch grösserem Nutzen als bei gewöhnlichen Typhusfällen, wie schon in meiner ersten Arbeit ausgeführt ist. Der Nachweis der Bacillen im Blute gewährt Vortheile, die wir nicht mehr entbehren möchten, da er in exaktester Weise fast in allen Fällen gewöhnlich innerhalb von 28 bis 36 Stunden die Diagnose sichert. (Während es im Jahre 1899 in 80 Procent der Fälle möglich war, gelang es mir bei allen 69 dem Krankenhaus St. Georg in Hamburg, im Jahre 1900 zugegangenon Typhusfällen, auch unter Einrechnung der Fälle, die nach 2 bis 3 Tagen fieberfrei waren, 58 Mal, also in 84 Procent, die Bacillen im Blute nachzuweisen.)

Schliesslich dürfte die Frage zu berühren sein, ob es zweckmässig ist, Fällen, wie sie eben beschrieben sind, auch äusserlich eine Sonderstellung durch Schaffung eines besonderen Namens einzuräumen. Ich bin mir dabei wohl bewusst, dass durch neue Namen leicht Verwirrung geschaffen wird, aber vom wissenschaftlichen Standpunkte aus erscheint es doch nothwendig, eine äusserliche Abgrenzung solcher Fälle zu ermöglichen.

Es dürfte sich vielleicht empfehlen, die Krankheitsfälle als Paratyphus und die betreffenden Bacillen als Paratyphusbacillen zu bezeichnen.

Herrn Director Professor Dr. Lenhartz bin ich für die Erlaubniss zur Ausführung der geschilderten Untersuchungen und für die Ueberlassung des Materiales zu ergebenem Danke verpflichtet.



Litteratur-Verzeichniss.

1. M. Auerbach u. E. Unger, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen im Blute Typhuskranker. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 49.

2. Alfons Fischer, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXII. S. 415.

3. Kitasato u. Weyl, Zur Kenntniss der Anaëroben. *Ebenda.* Bd. VIII.

4. Georg Meyer, Zur Kenntniss des Piorkowski'schen Verfahrens der Typhusdiagnose nebst einschlägigen Modificationen. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XXVIII. Nr. 4/5.

5. Piorkowski, Ein einfaches Verfahren zur Sicherung der Typhusdiagnose. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1899. Nr. 17.

6. Derselbe, Zur Sicherstellung der Typhusdiagnose. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 46.

7. Rothberger, *Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde.* Bd. XXIV und Bd. XXV.

8. Scheffler, Das Neutralroth als Hülfsmittel zur Diagnose des Bact. coli. *Ebenda.* Bd. XXVIII. Nr. 6/7.

9. E. Scholz u. P. Krause, Ueber den klinischen Werth der gegenwärtigen bakteriologischen Untersuchungsmethoden bei Typhus abdominalis. *Zeitschrift für klin. Medicin.* Bd. XLI. Nr. 5/6.

10. Schottmüller, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 32.

11. Stern, Typhusserum und Colibacillen. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XXIII.

12. Sternberg, Zur Verwerthbarkeit der Agglutination für die Diagnose der Typhusbacillen. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXIV.

13. H. Wittich, Beiträge zur Frage der Sicherstellung der Typhusdiagnose durch culturellen Nachweis auf Harngelatine-Nährböden. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde.* Bd. XXVI.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Bericht über die Thätigkeit in der zu Studien über Pest eingerichteten Station des Instituts für Infectionskrankheiten. 1899|1900.

Von

Prof. Dr. **W. Kolle.**

Als im Sommer 1899 die Pest in Oporto grössere Ausdehnung anzunehmen drohte, wurde im Neubau des Institutes für Infectionskrankheiten ein Laboratorium geschaffen, in dem genügende Sicherheitsmaassregeln getroffen wurden, um ein nach menschlicher Berechnung gefahrloses Arbeiten mit Pestbakterien zu ermöglichen. Nach den Erfahrungen, die in Wien seiner Zeit gemacht waren, schien es geboten, bei Versuchen mit Pestbakterien, die auch an Thieren angestellt werden sollten, möglichst grosse Sicherungsmaassregeln zu ergreifen. Dieselben bezogen sich nicht nur auf Vorrichtungen, welche ein Entwischen von Versuchsthieren unmöglich machen sollten (Sicherung aller Fenster und Oeffnungen mit Gittern u. s. w.), sondern sie dienten auch zur Sicherung derjenigen, die mit den Versuchen beauftragt waren (besonders construirte Käfige u. s. w.). Thatsächlich ist während der Untersuchungen, die sich über 9 Monate erstreckten und während deren auch eine grössere Zahl von Aerzten in Cursen unter Leitung von Prof. R. Pfeiffer, Prof. Frosch und dem Verf. ausgebildet wurden, um gegebenen Falles die bakteriologische Pestdiagnose stellen zu können, niemals eine Infection vorgekommen. Wie gerechtfertigt die Einrichtung eines solchen Laboratoriums war, zeigte sich sehr bald, da ja im Laufe dieses Jahres Pestfälle auch in deutsche Häfen eingeschleppt worden sind, und es dürfte auch für die Zukunft eine gewisse



Beruhigung gewähren, dass eine grössere Zahl von Aerzten nicht nur im Institut für Infectionskrankheiten, sondern auch im Kaiserlichen Gesundheitsamte in gleicher Weise Gelegenheit gehabt hat, sich längere Zeit hindurch mit den Eigenschaften der Pestbakterien in Bezug auf Morphologie und Thierpathogenität zu beschäftigen. Neben der Ausbildung einer grösseren Anzahl von Aerzten in der Pestdiagnose sollte es Aufgabe der in der Peststation auszuführenden Arbeiten sein, einzelne Ergebnisse der von verschiedenen nach Indien gesandten Commissionen angestellten Arbeiten nachzuprüfen bezw. nach Möglichkeit zu erweitern und namentlich auch weitere Versuche über die Wirksamkeit von Schutzimpfungsverfahren sowie des in Paris hergestellten Pestserums an Thieren anzustellen. Vor Allem sollten, wie Geheimrath Kirchner auf der im October 1899 im Kaiserl. Gesundheitsamte tagenden Pestconferenz erklärte, einige praktisch wichtige Fragen, wie z. B. die Diagnose und der Nachweis von spärlichen Pestbakterien in faulenden Flüssigkeiten, die einfachste und sicherste Herstellungsweise von Vaccins u. s. w., in erster Linie in dem Pestlaboratorium bearbeitet werden.

Es wurden zunächst 15 Culturen, welche Prof. Frosch und Prof. Kossel aus Oporto mitgebracht hatte, eine Cultur, welche von Paris bezogen war, sowie 3 Culturen, die von Prof. Bitter während der egyptischen Pestepidemie isolirt waren, nach den verschiedensten Richtungen hin geprüft. Die Culturen waren theils aus dem Blute, theils aus den Bubonen während des Lebens, theils aus der Leiche gewonnen. Schon makroskopisch zeigten die Culturen unter einander gewisse Unterschiede, die sich nicht nur in einem mehr oder weniger üppigen Wachsthum, sondern auch darin zeigten, dass einige der Culturen auf Agar fadenziehend waren, während andere diese Eigenschaft nicht erkennen liessen. Die Eigenschaft der Culturen, fadenziehend zu sein, hängt ja offenbar mit der schleimigen Hülle zusammen, welche die einzelnen Bakterien umgiebt. Worin indessen die Ursache zu suchen war, wesshalb einige Culturen diese schleimige Beschaffenheit zeigten, während sie anderen fehlte, das konnte nicht ermittelt werden. Nur das konnte festgestellt werden, dass es nicht in der Beschaffenheit des Nährbodens zu suchen war; denn die fadenziehenden Culturen behielten constant diese Eigenschaft auf den verschiedensten Nährböden bei, und andererseits zeigten die nicht fadenziehenden Culturen die schleimige Beschaffenheit nicht. Im übrigen konnte alles das bestätigt werden, was über die Morphologie der Pestbakterien, ihre Färbbarkeit und die Züchtungseigenarten bekannt geworden ist. Die leichte Bildung von Involutionsformen in Culturen wie im Thierkörper war allen Culturen in gleicher Weise eigen, besonders schön wurden die Involutionsformen auf recht trockenem 4 proc. Salzagar (nach Hankin) zur Darstellung gebracht. Zu-



weilen konnten echte Verzweigungen der Pestbacillen, namentlich bei Züchtung aus dem Thierkörper beobachtet werden. In solchen Fällen zeigten die Pestbacillen häufig die Neigung, keulenförmige Anschwellungen zu bilden, und wiesen eine gewisse Aehnlichkeit mit den Diphtheriebakterien auf. In anderen Fällen wieder war die Diplokokkenform der Pestbakterien vorwiegend, und es kann den Mittheilungen der meisten Beobachter nur zugestimmt werden, dass sich sehr häufig für diese Erscheinungen, welche bei derselben Cultur auf demselben Nährboden den einen Tag zu beobachten sind, während sie den nächsten Tag fehlen, die directen Ursachen nicht ermitteln lassen. Je mehr man überhaupt die Pestbakterien in ihrem biologischen Verhalten bei der Züchtung auf verschiedensten Nährmedien beobachtet, um so mehr zeigt sich, dass sie sehr labile Gebilde sind, welche oft unter geringfügigen Einflüssen und Bedingungen, die sich der Beobachtung entziehen können, ganz ausgesprochene morphologische Differenzen zeigen. So verhielt es sich z. B. auch bei der Prüfung der Culturen mit der Kapselbildung, auf die zuerst Zettnow aufmerksam gemacht hat, die sowohl in Culturen, als auch im Thierkörper zuweilen sichtbar gemacht werden konnte, zuweilen nicht. Die erheblichen Unterschiede, welche die Pestbakterien in ihrer Grösse so häufig aufweisen, hängen wohl zum Theil mit der Färbbarkeit dieses als Kapsel aufzufassenden Theiles des Bacteriums zusammen, zum Theil sind es wohl aber auch direct als Involutionsformen aufzufassende Quellungsformen, welche die Variabilität in der Grösse bedingen.

Die Polfärbung, deren constante Darstellung manchen Autoren nicht gelungen ist, lässt sich sehr leicht auch von demjenigen, der nicht darauf eingeübt ist, durch eine kleine Modification der Fixirung erzielen, welche Sobernheim zuerst angegeben hat. Sobernheim bringt die Deckgläschen, welche mit Material aus dem Thierkörper oder aus Culturen beschickt sind, für eine Minute in absoluten Alkohol und entfernt denselben dann durch rasches Verdunstenlassen, indem er das mit Alkohol befeuchtete Deckgläschen in die Nähe der Flamme hält. Die Deckgläschen werden dann in gewöhnlicher Weise gefärbt; am besten mit verdünnter wässeriger Methylenblaulösung. Ich habe nicht ein einziges Mal bei dieser Methode eine überaus distincte Polfärbung der Pestbakterien, mochte es sich um Culturen oder Präparate aus dem Thierkörper handeln, vermissen können. Auch die Ringformen der Bakterien, die häufig kaum noch als veränderte Pestbakterien erkannt werden können, treten bei dieser Art der Fixirung schön zu Tage.

Bei der Züchtung auf Nährböden erwies sich der schwach alkalische Agar im Allgemeinen als das geeignetste Medium; namentlich zur Züchtung aus dem Thierkörper ist der Agar, in dicker Schicht in Petri'schen



Schalen ausgegossen und nicht zu trocken, als das geeignetste Medium zu empfehlen. Bei Verwendung trockenen Agars in solchen Platten habe ich die Bildung des u. A. von Pfeiffer als charakteristisch angegebenen Saumes, der das Centrum der einzelnen Pestcolonieen umgiebt, nicht vermisst.

Die Unterschiede in der Entwickelung grosser und kleiner Colonieen waren bei den einzelnen geprüften Stämmen ziemlich erheblich. Während bei einigen Stämmen erst nach 10 bis 12 tägigem Wachsthum sich grössere Colonieen zwischen den kleineren entwickelten, zeigten einige Stämme schon nach 24 stündigem Wachsthum die Eigenschaft, zwei Arten von Colonieen zu bilden, die in ihrer Grösse erhebliche Differenzen aufwiesen. Die Pestbakterien haben in Bezug auf ihr Verhalten, Zwerg- und Riesencolonieen zu bilden, grosse Aehnlichkeit mit den Diphtherie- und Colibacillen. Wie bei diesen letzteren Bakterienarten, so konnte auch bei den Pestbacillen des Oefteren festgestellt werden, dass aus den grossen sowohl wie aus den kleinen Colonieen, wenn man von ihnen abimpft und Reinculturen herstellt, sich bei der Aussaat auf Agarplatten wieder beide Arten von Colonieen entwickeln (Frosch). Verschiedentlich angestellte Versuche ergaben auch, dass ein Unterschied in der Virulenz, der in den kleinen und der in den grossen Colonieen enthaltenen Bakterien nicht besteht.

Zur Prüfung der Virulenz wurden nun zu Beginn der Versuche von den 19 zur Verfügung stehenden Culturstämmen je eine Ratte subcutan in eine Hauttasche mit einer Oese 48 stündiger Agarcultur (in Substanz, nicht in Flüssigkeit aufgeschwemmt) geimpft. Das Resultat der Prüfung zeigte, dass nur 7 der Culturen überhaupt eine Pathogenität Ratten gegenüber hatten. Es waren dies 4 Culturen aus Oporto, die Pariser Cultur und 2 aus der egyptischen Epidemie stammende Culturen. Mit denjenigen Stämmen, bei welchen sich die meisten Pestbakterien im Blute gefunden hatten, wurden nun weitere Infectionsversuche an Ratten vorgenommen. Es wurden mit jeder der 7 Culturen je 2 Ratten in die Augenbindehaut (mit einem Tröpfchen einer Aufschwemmung), je 2 Ratten mit einer inficirten Nadel in eine Hautwunde inficirt und je 2 Ratten mit $^1/_2$ Oese Agarculturmasse in 1 ^{ccm} steriler Bouillon aufgeschwemmt injicirt. Ausserdem wurde je 2 Ratten Brod, das mit frischen Bouillonculturen getränkt war, zum Futter vorgeworfen. Nur bei 2 Culturen, Oporto und Paris, trat fast bei allen Thieren der Tod ein, allerdings meistens erst nach 4 bis 6 Tagen. Cultur Oporto war aus den Halsbubonen einer frischen menschlichen Pestleiche in Oporto von Prof. Frosch isolirt worden; Cultur Paris war vom Institut Pasteur bezogen worden.

Aus diesen Versuchen ergab sich also, dass keine der Culturen diejenige Virulenz für Ratten mehr besass, welche frisch aus den Menschen



gezüchtete Culturen zu besitzen pflegen. Keiner von den geprüften Stämmen besass ein erhebliches Alter, keinesfalls ein grösseres als einige Monate. Sie waren nach dem Transport bei niederer Temperatur in abgeschmolzenen Röhrchen im Eisschrank aufbewahrt worden und nur einmal in der Zwischenzeit auf neue Nährböden übertragen worden. Von allen Bakteriologen, die sich eingehender mit Virulenzstudien bei den Pestbakterien beschäftigt haben, sind derartige plötzliche Virulenzabschwächungen von Culturen beobachtet worden, die unmittelbar nach der Züchtung aus dem Menschen eine hohe Virulenz für Ratten besassen. Man wird in solchen Fällen zu der Annahme gedrängt, dass die Nährböden einen Einfluss auf diese Virulenzänderungen der Culturen besitzen. Bei den Versuchen, durch sog. Thierpassagen die Virulenz der Cultur zu erhöhen, wurde desshalb auf die Züchtung auf Nährböden verzichtet. Direkt vom Thier aus gelangte das pesthaltige Material zur Uebertragung. Und um auch hier ein möglichst elektives Verfahren für die Anzüchtung der infectiösesten Keime anzuwenden, werden die Passagethiere von der Augenbindehaut aus inficirt; es wurden stets 2 bis 3 Thiere verwendet, um ein Abreissen der Passage zu verhüten. Bei der Impfung in die Augenbindehaut verfuhr ich so, dass ich ein Tröpfchen Blut in die Lidspalte einfliessen liess, wobei jede auch noch so minimale Verletzung der Conjunctiva peinlich vermieden wurde. Man kann das leicht erreichen, wenn man ein Lid an der Aussenfläche mit der Pincette fasst und vom Bulbus abzieht.

Von der zehnten Passage ab starben die Ratten nach 36, ja schon nach 24 Stunden nach der Impfung. Auch bei Verfütterung trat nach 2 bis 3 Tagen der Tod ein; ebenso bei subcutaner Impfung nach 36 bis 24 Stunden. Blut und Milz waren dabei von Bacillen vollgepfropft. Es durfte nun also angenommen werden, dass diese Culturen annähernd den Virulenzgrad wieder besassen, den sie bei der Züchtung aus dem menschlichen Körper besessen hatten. Zur Anstellung der folgenden Thierversuche wurde die Cultur Oporto verwandt.

Diese Versuche bezweckten in erster Linie, die Empfänglichkeit der gebräuchlichsten Laboratoriumsthiere, Mäuse, Meerschweinchen, weissen und grauen Ratten, Katzen gegenüber der Pestinfection unter den verschiedensten Bedingungen und bei den verschiedensten Infectionsarten in grösseren Versuchsreihen zu prüfen.

Die Angaben der Deutschen Pestcommission, die sich hierauf beziehen und namentlich Versuche von R. Pfeiffer betreffen, konnten im Allgemeinen bestätigt werden. Im Folgenden sollen die Versuche und ihre Ergebnisse nur insoweit erwähnt sein, als erweiterte Ergebnisse bezw. Abweichungen gefunden wurden.



I. Versuche an Mäusen.

Bei Impfung kleinster Mengen infectiösen Materials mittels einer inficirten Nadel erlagen die weissen Mäuse ausnahmslos der Infection unter Bildung eines von der Infectionsstelle ausgehenden hämorrhagischen Infiltrates mit Drüsenschwellung. Die Bakterien finden sich fast stets in grosser Menge auch im Blute. Die Thiere sterben also an Bubonenpest mit nachfolgender Septicämie. Es wurden im Ganzen 19 Mäuse auf diese Weise inficirt. Bei Verfütterung von pestbacillenhaltigem Material, z. B. Brod oder Cadavern an Pest gefallenen Mäuse, erkranken und sterben an Pest ungefähr 50 Procent der Versuchsthiere. Es wurden an ca. 40 Mäusen derartige Versuche angestellt, nur zweimal zeigten sich in diesen Fällen Herde im Darm, ohne dass eine Veränderung der submaxillaren Drüsen im Sinne eines primären Bubo stattgefunden hatte. In diesen beiden Fällen waren auch die Mesenterialdrüsen wie bei einem primären Bubo vergrössert, d. h. die stark vergrösserten Drüsen waren mit zahlreichen Blutungen durchsetzt und enthielten zahlreiche Pestbacillen. In den anderen Fällen dagegen waren die Pestbacillen offenbar von der Schleimhaut des Maules in die Lymphwege und von da in die submaxillaren Drüsen gelangt und hatten dort die ersten pathologisch-anatomischen Veränderungen gesetzt. Diese Thatsache, auf die schon Weichselbaum, Albrecht und Ghon hingewiesen haben, verdient besondere Beachtung, denn sie weist darauf hin, dass unter natürlichen Verhältnissen sehr häufig gerade für diese Infectionsweise Gelegenheit gegeben sein wird, da ja die Thiere die Eigenart besitzen, die gefallenen Thiere anzunagen, wobei naturgemäss sehr leicht die Pestbacillen in kleine Verletzungen der Schleimhaut des Maules eingerieben werden können. Bei 9 Thieren wurde noch der Versuch gemacht, durch Einspritzung der Pestbakterien in's Maul Infection herbeizuführen. 4 der Thiere starben an primärer Pestpneumonie, bei 2 Thieren fand sich ein primärer Bubo in der Submaxillargegend und 3 Thiere blieben gesund.

Graue Mäuse verhielten sich bezüglich der Empfänglichkeit ebenso wie die weissen. Es wurden im Ganzen 20 Versuche angestellt. Nicht unerwähnt will ich lassen, dass die Milz, welche man bei Pestratten fast stets geschwollen findet, nur selten gegen die Norm vergrössert war bei den an Pest gestorbenen Mäusen.

II. Versuche an Ratten.

Bei den Ratten konnte ein Unterschied bezüglich der Empfänglichkeit zwischen grauen und weissen Ratten bezw. bunten Ratten nicht festgestellt werden. Es muss allerdings bemerkt werden, dass bei den zahl-



reichen Versuchen, welche ich mit Ratten angestellt habe, die überwiegende Mehrzahl an bunten und weissen Ratten gemacht wurden, weil graue Ratten nicht so leicht zu erhalten waren wie bunte Ratten.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen und die bakteriologischen Befunde, welche sich bei Ratten nach Einspritzung der Bakterien in das Unterhautzellgewebe, die Bauchhöhle der Impfung in eine Hauttasche zeigen, sind zu häufig beschrieben worden, als dass sie hier noch einmal wiederholt werden sollten. Auch die Impfung in die Augenbindehaut bot die Erscheinungen des Verlaufes und der postmortalen Veränderungen dar, welche schon von der deutschen und anderen Pestcommissionen beschrieben worden sind. Von den zahlreichen, weit über 100 Thiere umfassenden Versuchen entging fast nie eine Ratte der tödtlichen Infection (wobei der Tod in 24 bis 48 Stunden erfolgte), gleichgültig, ob die Einverleibung der Bakterien in das Peritoneum, die Conjunctiva oder das Unterhautzellgewebe erfolgte. Kurz erwähnen möchte ich die Versuche, welche mit der Verfütterung von pestbakterienhaltigem Material angestellt wurden. Diese Versuche umfassen ca. 60 Thiere, welche theils mit pestbakterienhaltigem Brod, theils mit Theilen von Rattencadavern, die von an Pest gefallenen Thieren herrührten, inficirt wurden. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle finden sich bei den nach Verfütterung von pestbakterienhaltigem Material gestorbenen Thieren die primären Bubonen in der Submaxillargegend. Von den 48 Thieren, welche von 60 in Folge dieser Infection starben, zeigten nicht weniger als 40 einen primären Bubo in der Submaxillargegend, bei 4 Thieren fand sich daneben eine primäre Pestpneumonie, bei 2 Thieren neben dem primären Bubo multiple Herde auf der Mucosa des Dünndarmes, und nur bei 2 Thieren zeigten sich primäre Herde im Dünndarm und primäre Bubonen in den Mesenterialdrüsen.

Aus diesen Thatsachen geht wohl mit Sicherheit hervor, dass auch unter den natürlichen Verhältnissen die Infection der Ratten sich meist so vollziehen wird, dass die Thiere die Cadaver der an Pest gefallenen annagen und sich dabei durch kleine Verletzungen am Maule inficiren, und dass von dort die Pestbakterien zuerst in die Submaxillardrüsen eindringen. Diese Drüsen erfahren dann in Folge der Einwanderung der Pestbakterien diejenigen Veränderungen, die unter der Bezeichnung des primären Bubo zusammengefasst werden. Die Veränderungen am Darm spielen sich an den Peyer'schen Plaques ab. Es finden sich dort linsengrosse, hämorrhagisch infiltrirte Knötchen, die häufig ein nekrotisches Centrum aufweisen. Bei 50 Procent der gestorbenen Thiere finden sich die Pestbakterien in grosser Menge dann auch im Blut und in den Organen vor. Unter allen Umständen ist es gerade, weil in Organen und Blut die Pestbakterien da fehlen können, wo der Tod an Pest bei den Ratten er-



folgt ist, nothwendig, die Submaxillardrüsen fein zu präpariren. Mittels mikroskopischer Ausstrichpräparate aus dem primären Bubo gelingt es, die Diagnose Pest mit Leichtigkeit häufig da zu stellen, wo Züchtungs- ja Thierversuche mit Organen oder Blut negativ ausfallen können.

III. Versuche an Meerschweinchen.

Besondere Bedeutung namentlich für diagnostische Zwecke, aber auch für Versuche zur Immunisation und zur Prüfung des Pestserums haben nach den ersten Versuchen von Weichselbaum, Ghon und Albrecht, die Versuche an Meerschweinchen erlangt. R. Pfeiffer und Dieudonné konnten in Indien nur sehr wenige Versuche an Meerschweinchen anstellen, weil es ihnen an dieser Thierspecies mangelte. Sie arbeiteten vorwiegend mit Ratten und Affen, welche beiden Thierarten in Indien leicht zu beschaffen waren. Es war bereits von Kitasato, Yersin, daneben aber auch von der deutschen Pestcommission und vom Verfasser festgestellt worden, dass die Meerschweinchen durch Impfung kleinster Mengen Pestbakterien in das Unterhautbindegewebe der Infection erliegen. Es bilden sich primäre Bubonen in der Gegend der regionären Lymphdrüsen, ein stark blutig-seröses Exsudat im ganzen Unterhautzellgewebe in der Umgebung der Infectionsstelle, und unter Pestsepsis erfolgt dann nach 2 bis 4 Tagen der Tod. Das ist das Bild, welches bei Verwendung von hochvirulenten Pestculturen sich zeigt und bei Anwendung von geringen Mengen von infectiösem Material. Bei Verwendung wenig virulenter Culturen kommt es zu einem langsameren Verlaufe. Es erfolgt eine starke Schwellung der Lymphdrüsen, die indessen häufig in Resorption und Heilung übergehen kann. In manchen Fällen erfolgt sogar ein Durchbruch der Bubonen nach aussen, und wieder in anderen Fällen erfolgt der Tod nach einigen Wochen an Marasmus, wohl in Folge der durch Krankheit zurückgebliebenen Vergiftung. Wenigstens zeigen sich in solchen Fällen die Organe steril.

Bitter hatte vor allen Dingen die Aufmerksamkeit auf die Verwendung der intraperitonealen Injection der Meerschweinchen mit Pestculturen gelenkt. Er hatte nicht nur gezeigt, dass kleinste Mengen von pestbacillenhaltigem Eiter oder Blut in das Peritoneum eingespritzt nach kurzer Zeit eine zum Tode führende Peritonitis herbeiführt, bei welcher sich die Pestbacillen in Reincultur in grosser Menge im Peritoneum und in den Organen finden, sondern er wies auch nach, dass von den reingezüchteten Culturen die kleinste Menge, bis zu $^{1}/_{1000}$ Oese, in das Peritoneum einverleibt den Tod der Thiere unter Pestperitonitis herbeiführt. Werthvoll aber waren vor allen Dingen die Angaben von Weichselbaum, Albrecht und Ghon, welche zeigten, dass die Aufbringung von pest-



bacillenhaltigem Material auf eine rasirte Hautstelle, z. B. an der Bauchhaut, genügend ist, selbst wenn die Einreibung eine ganz leichte ist, die Thiere unter einem typischen Bilde zu tödten. Diese Autoren theilten auch schon mit, dass es zuweilen gelingt, mit ganz wenig virulenten Culturen diese Wirkung zu erzielen.

Die Veränderungen, welche sich, wie ich auch bestätigen kann, bei den Meerschweinchen einstellen, bestehen in leichten entzündlichen Veränderungen in der Gegend der Auftragung des infectiösen Materials. Es kommt zu einer leichten Röthung, und die Haut hebt sich in kleinen Bläschen ab, welche in der Mitte eine leichte Vertiefung zeigen können, wie man sie bei Vaccinepusteln findet. In diesen Pusteln lassen sich Pestbakterien durch die Cultur und durch Uebertragung auf andere Thiere nachweisen. Nach wenigen Tagen kommt es dann zu einer starken Schwellung der regionären Lymphdrüsen, und nach wenigen Tagen erfolgt der Tod. Die Section zeigt eine starke hämorrhagische oder eitrig nekrotische Infiltration in dem Unterhautbindegewebe und unter der Stelle der Einreibung. Häufig zieht sich ein eitriger Strang nach den regionären Lymphdrüsen, welche eine intensive Durchsetzung mit Blutungen zeigen. In dem Unterhautbindegewebe sowohl wie in den Drüsen finden sich stets grosse Mengen von Pestbakterien. Meist finden sich auch im Blut zahlreiche Bacillen. Hauptsächlich in der Milz, dann aber auch in der Lunge kommt es zu Bildung von weisslichen Knötchen, welche eine grosse Aehnlichkeit mit den echten Tuberkelknötchen nicht nur makroskopisch, sondern auch mikroskopisch haben. Schnittpräparate solcher Knötchen zeigen, dass neben einer Zellwucherung diese Knötchen erfüllt sind von zahllosen Pestbakterien. Zuweilen finden sich ausser in der Milz und Lunge diese Knötchen auch in der Leber. Die Milz pflegt dabei sehr vergrössert zu sein. Bei ganz chronischem Verlauf, der sich nach Verwendung sehr alter Culturen über 3 bis 4 Wochen hinziehen kann, kommt es auch zu einem Zerfall der Knötchen in Folge nekrotischer Processe, die im Centrum einsetzend das ganze Knötchen ergreifen können. Es ist das der Beginn der Heilung, mit dem auch die Pestbakterien der Vernichtung verfallen. Allerdings tritt nur sehr selten Genesung ein, weil die Thiere an Marasmus zu Grunde gehen in Folge der Giftwirkung der zahlreichen zu Grunde gehenden Pestbakterien. Das makroskopische wie mikroskopische Bild, die zahllosen Pestbakterien in allen Formen von kleinen polgefärbten Stäbchen bis zu Involutions- und Ringformen, wie man sie bei menschlichen Bubonen wohl findet, sind so typisch, dass sie die Verwechslung mit anderen pathologischen Processen bei Meerschweinchen so gut wie ausschliessen. Die Züchtung ergiebt in solchen Fällen eine Reincultur von Pestbakterien.



Auf Grund dieser wichtigen Beobachtung von **Weichselbaum**, **Ghon** und **Albrecht** wurde nun die Pathogenität der Pestbakterien für Meerschweinchen bei allen möglichen Applicationsweisen eingehend studirt, und es wurden fast die sämmtlichen im Besitze des Institutes befindlichen Culturen auf ihre Wirkung bei den verschiedensten Infectionsweisen geprüft.

Was zunächst die Wirkung der hochvirulenten Culturen anbetraf, so zeigte es sich, dass dieselben sowohl nach intraperitonealer wie subcutaner Infection oder auch Verfütterung sowie bei Aufbringung von Material auf die rasirte Bauchheit als hoch infectiös sich erwiesen. Bei Impfung kleiner Mengen (1 kleine Oese) in eine kleine Hautwunde erfolgte ziemlich regelmässig nach 2 bis 4 Tagen der Tod, bei Stich mit inficirter Nadel in den Oberschenkel in der Mehrzahl der Fälle, unter dem bekannten Bilde der Bubonen mit Pestsepticämie. Bei intraperitonealer Infection zeigte sich nach Injection von $^1/_{100}$ Oese von frisch gewachsener Agarcultur oder nach einigen Tropfen Herzblutes, das pestbacillenhaltig war, eine Peritonitis, die meist nach 24 bis 36 Stunden mit massenhafter Vermehrung der Bakterien zum Tode führte. Bei cutaner Infection, bei Einreibung auf die Haut erfolgte der Tod bei Verwendung dieser hochvirulenten Cultur meist schon nach 2 bis 3 Tagen. Die Knötchen in der stark vergrösserten Milz und in der Lunge pflegten noch sehr klein zu sein und waren häufig erst mit der Lupe wahrnehmbar. Bei Einstreichung von infectiösem Material aus Reinculturen oder aus Blut in die Augenbindehaut pflegte der Tod nicht bei allen Thieren zu erfolgen. Als Beispiele dienen folgende Versuchsreihen: Von 10 so inficirten Meerschweinchen erkrankten 7 mit primärem Bubo, Halsbubo und nachfolgender Pestsepsis. Bei Verfütterung von Pestculturen, die bei 12 Meerschweinchen geschah, erkrankten 6 Thiere an Pest. Sie zeigten submaxillare Bubonen an den Halslymphdrüsen. Bei 2 Thieren fanden sich zugleich Herde im Dünndarm, jedoch waren in diesen Fällen die Veränderungen an den mesenterialen Lymphdrüsen weniger ausgesprochen als an den submaxillaren Drüsen. Bei 6 Thieren, welchen grössere Mengen Pestcultur in das Maul bezw. auf die Schleimhaut der Nase gespritzt wurden, erkrankten 1 an primärer Pestpneumonie, 2 an Bubonenpest, während sich bei 1 Meerschweinchen eine primäre Darmpest entwickelte, die übrigen 2 Thiere blieben gesund. Wie bei den Rattenversuchen scheint also die Infection bei dem Infectionsmodus, welcher höchstwahrscheinlich in der Natur am meisten vorkommen würde (praktisch kommen Meerschweinchenepizootien nicht in Betracht), weil diese Thiere ja Nagethiere sind, in den obersten Theilen des Digestionstractus stattzufinden. Die Entwickelung von primärer Darmpest tritt in solchen Fällen desshalb in den Hintergrund, weil die zuerst zur Entwickelung kommende primäre

Drüsenpest schon so vorzeitig den Tod des Thieres herbeiführt, dass es zur Ausbildung der typischen primären Bubonen in den Mesenterialdrüsen in den meisten Fällen nicht zu kommen pflegt. Auch werden die meisten in den Magen gelangenden Pestbakterien im Magen abgetödtet, da sie gegen Säureeinwirkung bekanntlich sehr empfindlich sind. Bei Verwendung der älteren Culturen, welche zum Teil bei den Prüfungen an Ratten und Mäusen sich als vollkommen avirulent erwiesen, zeigte sich gegenüber den Meerschweinchen ein anderes Verhalten. Während diese Bakterien bei Einspritzung selbst grösserer Mengen bis zu einer Oese in das Unterhautzellgewebe auch von den Meerschweinchen vertragen wurden und höchstens im Stande waren, eine locale, nach kurzer Zeit vorübergehende Drüsenschwellung hervorzurufen, entwickelten sich nach Einspritzung solcher Culturen in das Peritoneum zuweilen chronische Processe, bei welchen, wie dies schon von Weichselbaum, Albrecht und Ghon beschrieben worden ist, an der Leber- und Milzoberfläche und am Netz geschwulstartige Auflagerungen entstanden (ähnlich den chronischen Granulationsgeschwülsten), die bei der mikroskopischen Untersuchung sich als voll von Pestbakterien erwiesen. Die durch diese mehr chronische Form der Pest unter Abmagerung gestorbenen Thiere zeigen hier also ähnliche Verhältnisse, wie sie sich z. B. bei Aktinomykose oder auch Rotz finden, und es lässt sich also sagen, dass die schwach virulenten Pestculturen bei Meerschweinchen Veränderungen hervorrufen können, welche in die Gruppe der mehr chronischen Infectionsgeschwülste gehören. Bei Verfütterung und bei Einspritzung in das Maul oder Einbringung auf die Nasenschleimhaut entfalten diese avirulenten Culturen keine pathogenen Wirkungen. Keines von 5 Tieren, welche mit Aufschwemmungen einer avirulenten Cultur in das Maul inficirt wurden, erkrankte z. B. an einer primären Pestpneumonie. Diese Cultur, welche sich also bei subcutaner Infection sowie bei Aufbringung auf die Schleimhaut als ganz avirulent für die Meerschweinchen erwiesen hatte, zeigte nun bei cutaner Infection, d. h. bei Aufbringung einer Aufschwemmung der Cultur auf eine rasirte Hautstelle selbst bei Verwendung kleinster Mengen noch höchst pathogene Eigenschaften. Es entwickelte sich ausnahmslos bei diesen Thieren — es wurde an etwa 50 Thieren im Verlaufe längerer Zeit so experimentirt — das typische Bild, welches oben für diese Infectionsweise beschrieben worden ist.

Das Ergebniss dieser Versuche wurde nun nach der Richtung hin namentlich geprüft, nach der es auch schon von Weichselbaum, Albrecht und Ghon vorgeschlagen war, nämlich zur Isolirung von ganz vereinzelten Pestbakterien, z. B. aus Fäces oder aus faulenden Flüssigkeiten oder aus faulenden Leichentheilen (von Ratten und Meerschweinchen),



aus welchen erfahrungsgemäss die Züchtung mit grossen Schwierigkeiten verbunden ist, weil die Pestbakterien unter der Concurrenz der saprophytischen Bakterien bezw. Fäulnissbakterien meist zu unterliegen pflegen. R. Koch und Pfeiffer hatten für solche Fälle vorgeschlagen, zum Nachweis von ganz vereinzelten Pestkeimen die Auftragung des verdächtigen Materials auf die Augenbindehaut von Ratten vorzunehmen. Zahlreiche Versuche ergaben nun, dass die Infection der Ratten auf die Augenbindehaut einen sehr brauchbaren Infectionsmodus bildet und auch häufig gute Resultate giebt, wo es sich um den Nachweis von vereinzelten Pestbakterien im Blut z. B., das wenige Pestbakterien enthält, handelt. Aber bei vergleichenden Untersuchungen zeigte sich doch, dass die Meerschweinchenmethode im Allgemeinen dem Rattenversuch überlegen ist und auch sonst mancherlei Vorteile bietet, schon deshalb, weil es ja, wie jeder zugeben wird, im Allgemeinen angenehmer ist, mit Meerschweinchen als mit Ratten zu arbeiten. Zudem lässt sich eine grössere Fläche auf der Bauchhaut der Meerschweinchen gewinnen, und dementsprechend mehr Material verarbeiten als bei Einverleibung in die Augenbindehaut. In zahlreichen Fällen gelang der Nachweis von Pestkeimen aus solchen Fäulnissgemischen und auch aus Fäces von Ratten oder Meerschweinchen, bei denen sich Veränderungen am Darm zeigten, mittels Auftragung des verdächtigen Materials auf eine rasirte Hautstelle. Da die saprophytischen Bakterien und die Bakterien der Darmflora bei Verreibung auf der rasirten Haut, an welcher sichtbare Veränderungen kaum vorhanden sind, keine pathologischen Veränderungen zu erzeugen pflegen und auch infectiöse Eigenschaften nicht besitzen, so gelingt es nun thatsächlich auf diese Weise, eine Trennung der Pestbakterien von den begleitenden Mikroorganismen zu bewirken. Besonders wichtig ist es aber, dass in solchen Fällen nicht nur ganz vereinzelte Pestkeime gefunden werden können, sondern auch, dass die abgeschwächten oder für Ratten avirulent gewordenen Keime auf diese Weise noch nachgewiesen werden können.

Dass bei der cutanen Infectionsweise die Pestbakterien die Haut wohl durchdringen können, geht aus diesen Versuchen hervor. Es muss natürlich zugegeben werden, dass selbst bei der leichtesten Einreibung immerhin kleine Epitheldefecte gesetzt werden können, wenn es sich um unrasirte Hautstellen handelt. Bei rasirten Hautstellen aber wird man selbst bei vorsichtigster Manipulation doch stets mit kleinsten Epitheldefecten zu rechnen haben, und es darf aus diesen Versuchen wohl nicht geschlossen werden, dass Pestbakterien thatsächlich unverletzte Haut durchdrungen haben. Denn es wird schwerlich der Nachweis gelingen, dass nicht in solchen Fällen doch kleine Epitheldefecte oder Risse in der Haut vorhanden waren und die Haut also nur eine scheinbar unverletzte war.

Bei Ratten und auch Mäusen gelang es bei Anwendung der gleichen Infectionsweise nicht, diese Thiere unter dem Bilde der Pest zu tödten. Es wurden z. B. 6 Ratten auf die rasirte Bauchhaut 1 Oese von der hochvirulenten Pestculturmasse aufgestrichen, ohne dass diese Thiere erkrankten. Auch Versuche an weissen Mäusen ergaben ein negatives Resultat. Dagegen zeigte sich bei jungen Kaninchen, welche im Allgemeinen sonst der Pestinfection, der subcutanen wie der Infection von der Schleimhaut aus oder bei Verfütterung nicht so zugänglich sind, dass sie auch für diese Infectionsweise empfänglicher sind. Von 5 jungen Kaninchen, welchen Pestculturen auf die rasirte Bauchhaut aufgestrichen wurden, starben drei. Die Section ergab Tod an Pest mit Bildung von Bubonen und nachfolgender Sepsis. In einem Falle waren auch hier in der stark vergrösserten Milz kleine makroskopisch sichtbare Knötchen vorhanden. Ausgewachsene Kaninchen widerstanden dieser Infectionsweise. Es scheinen die Verhältnisse bezüglich der Empfänglichkeit dieser Nager für Pest ähnlich zu liegen wie bei Infection mit Cholerabacillen. Während säugende Kaninchen nach Verfütterung der Cholerabakterien in Milch, selbst kleinster Mengen, an typischer Darmcholera mit Epithelzerstörung erkranken und sterben, sind die erwachsenen gesunden Thiere so gut wie refractär gegen diese Infectionsweise. Einführung grösster Mengen Cholerabakterien in den Darm oder Magen nach Alkalisirung der Magensäfte hat nur selten Erkrankung im Gefolge.

Die Thatsache, dass ein Bacterium, welches bei directer Einspritzung selbst grösserer Mengen in das Unterhautzellgewebe keine pathogenen Eigenschaften entfaltet, bei blosser Einreibung auf die scheinbar unverletzte oder rasirte Bauchhaut im Stande ist, mit Sicherheit ein Thier unter Entfaltung pathogener Eigenschaften in kurzer Zeit zu tödten, dürfte eine allgemeinere und principielle Bedeutung besitzen, die zur Erklärung mancher Thatsachen über das Zustandekommen von Infectionen auch bei Menschen nicht nur bei der Pest, sondern auch bei anderen Krankheiten vielleicht einiges Licht verbreiten kann.

An Affen wurden keine Versuche angestellt, einestheils, weil das Experimentiren mit diesen Thieren ein ziemlich gefährliches und auch kostspieliges ist. Für diagnostische Zwecke kommt der Versuch an Affen nicht in Betracht. Sodann waren schon von der deutschen Pestcommission wie auch von anderen Pestcommissionen zahlreiche Versuche an diesen Thieren angestellt worden, so dass in Bezug auf die pathologischen Erscheinungen die Empfänglichkeit und dergl. kaum etwas nachzutragen war. Sie erschienen auch desshalb kaum nothwendig, als ja das Meerschweinchen sich als ein so hoch empfängliches Thier erwiesen hatte und auch



sich für die Infection mit Pestbacillen unter Verhältnissen empfänglich zeigte, die nach Allem, was wir bis jetzt über Pathogenität von Pestbakterien wissen, den Bedingungen wohl am meisten entsprechen, unter denen wir beim Menschen die meisten Infectionen entstanden annehmen müssen, nämlich von der scheinbar unverletzten oder ganz oberflächlich verletzten Haut aus. Dagegen wurden einige Versuche an Tauben und Hühnern gemacht, um die hier und da wieder auftauchende Ansicht nochmals zu widerlegen, dass die Pestbakterien auch für diese Thiere pathogen seien. Es war in letzter Zeit nämlich wieder auf die Thatsache verwiesen, die sich in Berichten aus älterer Zeit vielfach die Angabe findet, dass während der Pestepidemie Vögel in grosser Menge in pestverseuchten Orten gestorben seien. Sodann dienten diese Versuche stets mit als Controlversuche dafür, dass die bei den fortlaufenden Thierversuchen gewonnenen Culturen nicht etwa durch einen unglücklichen Zufall mit Hühnercholerabakterien, die während der Curse auch zu vergleichenden Studien mit herangezogen wurden, verunreinigt worden wären. Es wurden zahlreichen Tauben und Hühnern 2 bezw. 3 Oesen von Pestculturen subcutan und intramusculär injicirt, ohne dass ausser vorübergehenden Krankheitserscheinungen, die wohl auf die Giftwirkung der Pestbakterien zu beziehen sind, sich je eine pathogene Wirkung der Pestbakterien bei diesen Thieren hätte nachweisen lassen können.

Umgekehrt besitzen die Hühnercholerabakterien bei den hier in Betracht kommenden Nagethieren gar keine infectiösen oder pathogenen Eigenschaften bei dieser Infectionsweise. Ich habe wiederholt Meerschweinchen, Ratten, Mäusen, Kaninchen grössere Mengen von Hühnercholerabakterienculturen auf die rasirte Bauchhaut aufgetragen, habe aber niemals eine Erkrankung der Thiere eintreten sehen, selbst dann nicht, wenn leichte oberflächliche Wunden gesetzt waren. Die Hühnercholerabakterien waren für Tauben hochvirulent. Die Einführung minimalster an einer Nadelspitze haftender Mengen in eine kleine Hautwunde führte in 24 Stunden regelmässig den Tod der Tauben durch Septicämie herbei. Ratten vertrugen 1 Oese der Hühnercholeracultur in Bouillon aufgeschwemmt, anstandslos auch subcutan.

IV. Versuche an Katzen.

Dagegen schien es von gewissem Werthe zu sein, die Angaben nachzuprüfen, dass Katzen für Pest empfänglich sind. Es wurden im Ganzen an 6 Hauskatzen Versuche angestellt. 4 Katzen wurden an mehreren auf einander folgenden Tagen mit Brod gefüttert, welches mit Pestbakterien durchtränkt war. Zwei von diesen Katzen erkrankten nach drei Tagen mit Zeichen von Mattigkeit; sie taumelten im Käfig umher, zeigten Fress-



unlust und starben am 7. Tage, nachdem sie zum letzten Male pestinficirtes Brod zu fressen bekommen hatten. Bei der Section der einen Katze zeigte sich eine primäre Schwellung der submaxillaren Lymphdrüsen von ungefähr Haselnussgrösse. Sowohl in der Drüse wie im Blute und in der vergrösserten Milz fanden sich ungeheure Mengen von Pestbakterien vor. Dieselben wurden aus dem Blute und aus den Drüsen reingezüchtet und in Bezug auf ihre Virulenz bei Meerschweinchen und Ratten geprüft und erwiesen sich als hochvirulent. Bei der anderen Katze fanden sich mehrere hämorrhagische Herde im Dünndarm vor, entsprechend den Peyer'schen Plaques, und in den Mesenterialdrüsen primäre Bubonen. Dieselben waren bis zu Wallnussgrösse vergrössert, hämorrhagisch durchsetzt und wiesen grosse Mengen der typischen Pestbacillen auf. Aus den Drüsen, dem Blute und der Milz, in denen sich die Bakterien gleichfalls in grossen Mengen fanden, wurden sie auf Agarplatten gezüchtet, isolirt und an Ratten und Meerschweinchen auf ihre Infectiosität geprüft. Auch hier zeigten sie sich voll virulent. Zwei Katzen wurden mit je einer todten an Pest gestorbenen Ratte gefüttert, die sie beide frassen. Die eine Katze erkrankte am 9. Tage nach der Verfütterung der Ratten. Die andere dagegen blieb zunächst gesund. Die gestorbene Katze hatte einen primären Bubo in der Submaxillargegend; der Tod war an Pestsepsis erfolgt. Die Pestbakterien, wie ich hier noch bemerken möchte, zeigen gerade in den Bubonen bei Katzen die allertypischsten Formen und sind reich an Involutionsformen und Ringformen, wie sie sich namentlich bei menschlichen Halsbubonen finden. Die andere Katze zeigte am 8. Tage ausser Fressunlust Ausfluss aus beiden Nasenlöchern. Ich nahm mit der Platinöse eine kleine Menge von diesem Secret ab und impfte etwas davon auf eine Agarplatte, während ich den Rest einem Meerschweinchen auf die rasirte Bauchhaut brachte. Das Meerschweinchen starb 5 Tage später an Pest, während auf der Agarplatte am zweiten Tage Pestcolonieen nachgewiesen werden konnten. Die Katze ging nicht zu Grunde, sondern erholte sich nach schwerer Erkrankung und nachdem sie sehr abgemagert war und wurde erst am 30. Tage nach der Infection, als das Laboratorium zeitweise wegen des Umbaus des Institutes geschlossen werden musste, getödtet. Bei der Obduction konnten weder pathologische Veränderungen noch Pestbacillen bei diesem Thiere nachgewiesen werden. Höchstwahrscheinlich hatte dieses Thier also eine Pestangina überstanden.

V. Versuche mit Ungeziefer.

Es wurde verschiedentlich Gelegenheit genommen, so bald mit Ungeziefer besetzte Ratten gefunden wurden, die Frage zu prüfen, inwieweit das an Ratten befindliche Ungeziefer im Stande ist, die Pest auf andere



Ratten zu übertragen. Von den zu unseren Versuchen benutzten ca. 250 Ratten wurden nur neun Mal Thiere gefunden, welche stärker mit Ungeziefer, meist Flöhen, besetzt waren. Bekanntlich hatten verschiedene Beobachter auf Grund ihrer Versuche die Behauptung aufgestellt, dass das Ungeziefer bei Mäusen und Ratten die Pest überträgt. So hatte Ogata eine Maus dadurch pestkrank gemacht, dass er ihr Flöhe von einer Pestratte aufsetzte. Nuttall fand, dass Wanzen, die von pestkranken und an Pest verendeten Ratten und Mäusen Blut gesogen hatten, Pestbacillen enthielten. Er konnte aber auch schon feststellen, dass die Pestbacillen nach 24 Stunden im Wanzenleibe absterben, und ferner sah er, trotzdem er Mäuse von pestinficirten Wanzen stechen liess, nie eine Pestinfection bei den Thieren zu Stande kommen.

Simond stellte Versuche mit Flöhen an; da es ihm mehrfach gelang, mit inficirten Flöhen die Pest auf Mäuse zu übertragen, so stellte er darauf hin eine Theorie auf, nach der die Verbreitung der Pest unter Thieren fast ausschliesslich durch Vermittelung der Wanzen und Flöhe stattfindet.

Yersin konnte durch Verimpfung der Theile einer im Pestlaboratorium todt gefundenen Fliege, Hankin durch Verimpfen der Secrete von Ameisen, die Ratten-Pestcadaver angefressen hatten, Pest bei Thieren erzeugen. Die Versuchsanordnung bei meinen Experimenten geschah nun so, dass bei den mit Ungeziefer besetzten Ratten, wenn sie an Pest gestorben waren, die Wanzen oder Flöhe, soweit dies möglich war, auf eine frische Ratte übertragen wurden. In den meisten Fällen findet man allerdings schon beim Tode der mit Ungeziefer besetzten pestkranken Thiere, dass die meisten während des Lebens an den Ratten befindlichen Flöhe (Wanzen sind sehr selten) von dem Wirth nach dem Tode abgekrochen sind und sich in der Spreu des Käfigs verkrochen haben. Um nun diesen höchstwahrscheinlich inficirten Parasiten Gelegenheit zu geben, auf neue Ratten die Pest zu übertragen, wurden in einen so inficirten Käfig frische Ratten hineingesetzt. Da, wo noch reichlich Gelegenheit war, Ungeziefer an den Pestcadavern zu sehen, wurden die Cadaver auf einige Stunden in einen frischen Käfig gelegt und dann frische Ratten hineingesetzt, nachdem die Cadaver wieder entfernt waren. In keinem der so angestellten Versuche kam es zu einer Uebertragung der Infection auf die gesunden Thiere, obgleich in mehreren Fällen der directe Uebergang des Ungeziefers von den inficirten Ratten auf die gesunden dadurch festgestellt werden konnte, dass sich auf den gesunden Thieren mehr Flöhe nach einiger Zeit nachweisen liessen, als vorher vorhanden waren.

In der Mehrzahl der Fälle findet bei Ratten-Pestepizoobien höchstwahrscheinlich die Infection der Ratten durch Annagen der an Pest ge-



fallenen Thiere statt, wobei die Pestbacillen von der Schleimhaut des Maules Eingang in die Submaxillardrüsen verschaffen. Es ist klar, dass Pestbakterien aus dem Blute pestkranker Thiere mit in den Leib von Parasiten, die derartiges Blut saugen, übergehen. Ob aber die Infection frischer Thiere durch den Biss der Parasiten stattfindet, ist noch nicht einwandsfrei erwiesen.

Ganz neuerdings hat allerdings Thompson in Sydney auf die Frage der Uebertragbarkeit der Pestbakterien von den Ratten auf die Menschen durch Vermittelung der Flöhe wieder die Aufmerksamkeit gelenkt. Seine Angaben, es hätten in Sydney sich alle anderen Uebertragungsweisen und Verbreitungswege der Pestkeime, es sei denn durch Ratten und von ihnen aus durch Flöhe, fast völlig bei kritischem epidemieologischen Studium der Pestepidemie in Sydney ausschliessen lassen, sind so bestimmt, dass ein nochmaliges Studium dieser Frage jetzt in Angriff genommen werden soll.

VI. Versuche mit dem Danysz'schen rattenpathogenen Bacillus.

Nachdem Dr. Danysz im Institut Pasteur einen Bacillus entdeckt hatte, der für Ratten pathogen ist, und denselben als Rattenvertilgungsmittel empfohlen hatte, schien es geboten, Versuche über die Wirksamkeit dieses Bacteriums, namentlich nach der Richtung anzustellen, ob der Bacillus Erreger von Epizootien unter den Ratten ist oder werden kann durch Steigerung seiner Virulenz mit Thierpassagen. Ich erhielt Culturen des Bacillus von Hrn. Dr. Danysz direct zugesandt mit dem Bemerken, dass er eben Virulenzprüfungen mit dem Bacterium vorgenommen habe und die Virulenz für sehr hoch halte.

Der Bacillus, welcher in Reincultur aus den von Dr. Danysz übersandten Culturen isolirt werden konnte, gehört der Gruppe des Bacterium coli nach seinen morphologischen Eigenschaften und seinem Verhalten auf Nährböden an. Bei den Versuchen wurde ganz nach den Vorschriften verfahren, die Danysz angegeben hat[1] und die im Wesentlichen darin bestehen, durch Mäusepassagen, abwechselnd mit Züchtung in Bouillon oder, in Collodiumsäckchen im Thierkörper, die Virulenz des Bacteriums zu erhalten. Daneben wurde die Versuchsanordnung aber möglichst so gestaltet, wie sie den für eine Rattenvertilgung in Praxis vorzunehmenden Maassnahmen am meisten ähnlich ist. Dem entsprechend wurde eine grössere Anzahl Ratten, meist 10 in einem Käfig zusammen, mit Brod gefüttert, das mit Bouillonculturen des Bacillus getränkt war. Starb eine

[1] *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900.



Ratte, so wurde sie liegen gelassen, bis sie von den überlebenden Thieren angefressen war, und wurde dann erst aus dem Käfig entfernt. Vom zweiten Tage ab wurden die Ratten mit gewöhnlichem Brod gefüttert. Zu den Versuchen wurden einerseits wilde graue und andererseits zahme bunte und weisse Ratten verwendet. Ein Unterschied zwischen beiden Ratten in der Empfänglichkeit trat nicht hervor. Die verstorbenen Ratten wurden zum Theil frischen Ratten zum Futter vorgelegt, um zu sehen, inwieweit sich eine Fortzüchtung des Bacteriums von Ratte zu Ratte und eventuelle Steigerung der Virulenz bei diesem, den natürlichen Verhältnissen am meisten entsprechenden Infectionsmodus erreichen liesse.

Als Resultat dieser Versuche, die im Ganzen an 60 Ratten angestellt wurden, kann zunächst verzeichnet werden, dass das Bacterium thatsächlich für Ratten bei Verfütterung pathogen ist. Es starben allerdings, selbst bei mehrtägiger Verfütterung des inficirten Brodes, nur ca. 60 Procent der Versuchsthiere. Der Tod erfolgt wesentlich durch Giftwirkung vom Darm aus, der hämorrhagisch entzündet ist; im Blute und den Organen sind die Bakterien nur sehr spärlich zu finden. Die schon von Danysz verzeichnete Thatsache, dass die Bakterien bei Uebertragung von Thier zu Thier, z. B. durch Verfütterung der Cadaver, nach einigen Passagen ihre pathogenen Eigenschaften verlieren, konnte bestätigt, und damit die Thatsache festgelegt werden, welche die grösste Bedeutung für die Beurtheilung des Werthes dieser pathogenen Bakterien für die praktische Rattenvertilgung besitzt. Denn unter diesen Umständen kann es zu einer richtigen Epizootie unter den Ratten um so weniger kommen, als die infectiösen Eigenschaften des Bacillus an sich schon sehr geringe sind. Es bedarf stets reichlicher Einführung von Bakterienmaterial mittels der Nahrung, damit die Thiere überhaupt sterben. Wenn man noch in Rechnung zieht, dass nur ca. 60 Procent der Thiere selbst bei Versuchen im Käfig, wo eine Infection immer noch erheblich leichter als in Canälen, auf Schiffen u. s. w. erzielt werden kann, starben, so dürfte die Verwendung der rattengiftigen Bakterien in der Praxis dem Auslegen von Gift nicht vorzuziehen sein.

VII. Versuche mit Pestserum, hergestellt im Institut Pasteur.

Es wurde eine grössere Anzahl Versuche angestellt an Ratten und Meerschweinchen, um die Wirksamkeit des im Institut Pasteur hergestellten Pestserums einer nochmaligen Prüfung zu unterziehen. Es erschien nicht unwichtig, mit einer hochvirulenten Pestcultur an Nagethieren bei verschiedenem Infectionsmodus nicht nur die Frage der Präventivkraft des Serums nochmals zu prüfen, sondern auch den Heilwerth zu bestimmen, zumal doch an den verschiedensten Stellen der Erde mit dem Yersin'schen



Serum an Menschen angestellte Heilversuche von manchen Beobachtern recht ungünstig, von anderen wieder skeptisch und nur von sehr wenigen als günstig und heilsam geschildert worden waren. Wenngleich ein Schluss von den an den Thieren erhaltenen Versuchsergebnissen auf die menschliche Pathologie nur mit grosser Reserve zu ziehen ist, so können andererseits möglichst ausgedehnte Thierversuche unter Umständen mitbestimmend für die Bewerthung des Pestserums in der Therapie werden. R. Pfeiffer und Dieudonné hatten vorwiegend an Affen (Macacus radiatus) die Pestserumversuche angestellt. Aus diesem Grunde wählte ich Ratten und Meerschweinchen, welch' letztere von Pfeiffer nicht benutzt werden konnten, weil die von Europa mitgenommenen Thiere während der Seereise gestorben waren. Die von R. Pfeiffer an Affen gewonnenen Ergebnisse stimmen im Allgemeinen mit den an Ratten gewonnenen überein; die an Meerschweinchen vorgenommenen sind allerdings erheblich ungünstiger für das Pestserum ausgefallen.

10 Ratten wurden mit je 4 ccm Pestserum, welches fünf Wochen alt war und, nachdem es von Paris gekommen war, im Eisschrank aufbewahrt war, injicirt. Das Serum war klar und ohne Trübung. Es wurden 2 dieser Ratten nach drei Tagen auf die Augenbindehaut mit Reinculturen von Pestbakterien geimpft, 2 nach sechs Tagen, 2 nach neun Tagen, 2 nach zwölf Tagen, 2 nach zwanzig Tagen. Die ersten 6 Ratten blieben gesund, die anderen 4 erkrankten an Pest und starben. Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die Schutzkraft des Serums eine nicht sehr langdauernde ist.

6 Ratten wurden mit je $^1/_{100}$ Oese Pestbakterien, aufgeschwemmt in 0·5 ccm Bouillon, subcutan injicirt und erhielten 18 Stunden nach der Injection der Pestbakterien je 3 ccm Pestserum. Sämmtliche 6 Ratten erkrankten und starben an Pest. Bei 3 Ratten war allerdings der Krankheitsverlauf ein sehr protrahirter.

8 Ratten erhielten gleichzeitig $^1/_{100}$ Oese Pestcultur und 3 ccm Pestserum. Von diesen zeigten mehrere Thiere einige Tage nach der Injection Fressunlust, aber nur eines der Thiere erkrankte und starb an Pest. Aus diesen Versuchen an Ratten geht hervor, dass dem Serum eine gewisse specifische Wirksamkeit, die sich in dem Auftreten von Schutzwirkung äussert, zuzuerkennen ist. Dagegen ist eine Heilwirkung in diesen Versuchen wohl nicht zu Tage getreten, selbst dann nicht, wenn das Serum nur 18 Stunden nach der Infection verwandt wurde.

Viel ungünstigere Resultate wurden nun aber erhalten, wenn Meerschweinchen zum Versuche benutzt wurden, und zwar zeigte es sich, dass, wenn die Infection der Meerschweinchen durch Aufbringung von Pestbakterien auf die Bauchhaut



erfolgte, selbst grosse Dosen von Serum wiederholt gegeben nicht den mindesten Effect entfalten konnten, während das Serum bei subcutaner, ja auch bei intraperitonealer Infection doch eine gewisse Wirksamkeit entfaltete. Folgende Beispiele mögen dies zeigen. 12 Meerschweinchen erhielten je 4 ccm Pestserum subcutan injicirt. 6 der Thiere wurden an demselben Tage hochvirulente Pestbakterien auf die rasirte Bauchhaut gebracht, den anderen 6 Thieren nach 24 Stunden. Von diesen 12 Meerschweinchen entging nur eines dem Tode, aber auch das eine nicht gestorbene zeigte Krankheitserscheinungen und einen Bubo, der später durchbrach und Pestbakterien enthielt. 4 Meerschweinchen wurden je 4 ccm Pestserum injicirt und dieselben nach 2 Tagen von der rasirten Bauchhaut aus durch Auftragen von Pestbakterien auf dieselbe inficirt. Zwei Tage nach der Infection wurden dieselben nochmals mit je 2 ccm Pestserum injicirt. Sämmtliche Thiere erlagen der Infection. 3 Meerschweinchen wurden Pestbakterien auf die rasirte Bauchhaut gebracht; sie erhielten 3 Stunden, 27 Stunden, 51 Stunden nach der Infection je 2 ccm Pestserum subcutan injicirt. Sämmtliche Thiere erkrankten und starben an Pest. 2 Meerschweinchen erhielten je 2 ccm, 2 Meerschweinchen je 3 ccm, 2 Meerschweinchen je $3^1/_2$ ccm Pestserum. 3 von diesen Thieren wurden am nächsten Tage mit je $^1/_{100}$ Oese intraperitoneal, 3 mit $^1/_{10}$ Oese, in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt, subcutan injicirt. Von diesen Thieren erlagen 2 der Pest, während die 4 anderen Thiere nach Abmagerung und Kranksein mit dem Leben davon kamen. Da bei Verwendung virulenter Pestculturen und dieser Infectionsweise die Meerschweinchen sonst fast stets zu erliegen pflegen, so tritt also eine gewisse Schutzwirkung des Serums auch hier zu Tage, wenngleich dieselbe als eine geringe zu bezeichnen ist.

Da neuerdings die Methoden, ein wirksameres Serum als bisher zu gewinnen, verbessert sind, so sollen mit den neuesten Pestserumpräparaten, die im Institut Pasteur hergestellt werden, nochmals ähnliche Versuche, wie die mitgetheilten, angestellt werden. Dies ist um so nothwendiger, als die Thierversuche mit Pestserum aus äusseren Gründen (Umbauen der Station) bald nach Beginn der Versuche wieder abgebrochen werden mussten. Sie sollen jetzt wieder aufgenommen werden, um ein abschliessendes Urtheil über die Wirksamkeit des Serums an Thieren zu gewinnen.

VIII. Versuche mit activer Immunisirung.

Die activen Immunisirungsversuche an Thieren besitzen eine praktische Bedeutung, einmal, weil solche Versuche ein gewisses wissenschaftliches Material geben über die Wirksamkeit von activen Schutzimpfungsverfahren



und deshalb zu Schlüssen auf die Wirksamkeit solcher Schutzimpfungen beim Menschen mit einem gewissen Vorbehalt verwandt werden können, nachdem von Haffkine zuerst in grösserer Ausdehnung in Indien solche Schutzimpfungen ausgeführt worden waren, sodann aber, weil die Resultate der Immunisirungsversuche zugleich einen Maassstab für die Bestimmung der Immunisirungskraft des Impfstoffes abgeben. Die Versuche dienen zugleich zu einer Prüfung, inwieweit sich der beim Menschen zu verwendende Impfstoff, der ja auch für diese Thierversuche in Betracht kommt, conservirbar erweist, und welches die beste Form für seine Herstellung bezw. seine Conservirung ist. Haffkine hatte bekanntlich Bouillonculturen für die Gewinnung des Impfstoffes vorgeschlagen. Die Herstellung derselben geschieht bekanntlich so, dass grosse, mehrere Liter fassende Kolben bis zur Hälfte mit Bouillon gefüllt werden. Auf die Oberfläche der Bouillon wird Butterfett gebracht; dann wird die Bouillon sterilisirt und mit einer Reincultur von Pestbacillen inficirt. Nun werden die Kolben einen Monat bei 30° C. gelassen; von Zeit zu Zeit werden sie geschüttelt. Dann sinken die Oberflächenculturen zu Boden, und es findet auf der Oberfläche die Bildung einer neuen Haut statt, ausgehend von den am Butterfett haftenden Bakterien, die in Stalaktiten an den Fetttröpfchen herabhängen[1]. Auf diese Weise wird ein möglichst ausgiebiges Bakterienwachsthum erzielt. Ehe die Culturen abgetödtet werden zum Zwecke der Herstellung des Impfstoffes, werden sie durch Ausstreichen auf Agar auf ihre Reinheit geprüft. Wenn sie sich rein erweisen, dann wird die Flüssigkeit in Reagenzgläser gefüllt, welche zugeschmolzen werden. Die Pestbacillen werden dann durch Erhitzung auf 70° C. während 1 Stunde abgetödtet. Ehe die Vaccins den Menschen einverleibt werden, wird der Sicherheit halber noch $^1/_2$ Procent Phenol zugesetzt, das man einige Zeit einwirken lässt. Die Idee, weshalb Haffkine diese Methode wählte, war einmal die Schwierigkeit, die seiner Ansicht nach darin bestand, grössere Agarculturmassen herzustellen, wie sie für Massenimpfungen in Betracht kommen. Dann aber schwebte ihm auch der Gedanke vor, dass in den flüssigen Nährböden giftige Stoffwechselproducte entstehen, die in dem Impfstoff mit enthalten sein müssen, um ihm eine hohe Wirksamkeit zu verleihen. Im Gegensatz zu Haffkine hat R. Pfeiffer in Analogie der Typhus- und Choleraschutzimpfung dann vorgeschlagen, Agarculturen, die 2 Tage gewachsen waren, zu benutzen. Die Culturen werden in steriler Bouillon aufgeschwemmt und 1 Stunde bei 65° C. abgetödtet. Die Verwendung

[1] Man kann diese Stalaktitenbildung der Pestbakterien, die übrigens keine für Pestbakterien specifische Erscheinung darstellt, auch an Korkstückchen beobachten, welche auf der Oberfläche der Bouillon schwimmen.



der Agarculturen hat gewisse Vorzüge, weil sie nicht nur eine bessere Dosirung ermöglicht, sondern auch weil die Reinheit der Culturen sich besser controliren lässt. Zudem aber bestimmten R. Pfeiffer Versuche, die er mit den Filtraten frischer in Bouillon gewachsener Pestculturen anstellte, die Agarculturen den Bouillonculturen vorzuziehen. Er konnte nämlich feststellen, dass die Immunisirung sich mit den Bakterienleibern bei Thieren mit einer gewissen Sicherheit erzielen lässt, während dem Filtrat frischer wie alter Bouillon-Culturen der Pestbacillen eine nur geringe Wirksamkeit zukam. Nach den analogen mit Cholera- und Typhusbakterien angestellten Versuchen konnte R. Pfeiffer schliessen, dass die Giftstoffe, und damit die immunisirenden Stoffe, wesentlich an die Leibessubstanz der Pestbakterien gebunden sind und nicht secernirt werden. Zudem muss die Verwendung solcher frischer Agarculturen schon deshalb von grösserem Werte sein, als die Benutzung schwach virulenter Culturen sich als unwirksam erwiesen hatte. Haffkine hatte aber selbst angegeben, dass in alten Bouillonculturen die Virulenz der Pestbacillen sehr rasch abnimmt. Die Dosis bei den Haffkine'schen Versuchen betrug anfangs 2 bis 3 ^{ccm}, aber im Laufe der Zeit hat Haffkine die Dosis beträchtlich erhöht, weil sich diese kleinen Dosen als nicht genügend schutzgebend erwiesen und nach den letzten Berichten des englischen Pestcomités, welches die Resultate der Haffkine'schen Schutzimpfung in Indien geprüft hat, hat Haffkine bis zu 20, ja 25 ^{ccm} pro Dosis eingespritzt.

Was zunächst die praktische Brauchbarkeit der Verwendung von Agarculturen betrifft, so kann man mit Leichtigkeit demonstriren, dass die Herstellung der Vaccins, wenn man nur darauf eingeübt ist, sich in kurzer Zeit bewerkstelligen lässt. Man kann bei genügender Uebung bis zu 200 Dosen des Impfstoffes (Dose = 1 Agarcultur) in 1 Stunde herstellen, so dass ein geübter Arbeiter bei täglich 6stündiger Arbeitszeit 1200 Dosen Vaccins herstellen könnte. Um mit Leichtigkeit die Culturmasse von dem Agar abzustreifen, empfiehlt es sich, recht festen Agar zu benutzen. Um möglichst viel Culturmasse zu erhalten, ist die Verwendung ganz weiter Agarröhrchen zweckmässig, auf denen eine möglichst grosse Oberfläche hergestellt wird, und bei der Besäung empfiehlt es sich, die Oberfläche reichlich zu befeuchten, weil dann das Wachsthum ein besseres ist. Von diesen Röhrchen wird die Culturmasse mit physiologischer Kochsalzlösung unter Benutzung eines ganz starken, 1 ^{mm} dicken Platinstabes abgestrichen unter Zerreiben des Bakterienrasens. Es bilden sich dann allerdings noch zusammenhängende Conglomerate von Bakterienmasse, das schadet aber nicht so viel, weil bei dem nun folgenden Sterilisationsverfahren diese Conglomerate leicht zertrümmert werden können. Zahlreiche Versuche



hatten mich davon überzeugt, dass bei Verwendung sehr concentrirter Aufschwemmungen der Pestculturmassen sich sehr häufig ein sicheres Abtödten der Bakterien selbst bei mehrstündigem Aufenthalt im Apparat bei 65° C. nicht erreichen liess. Es konnten in solchen Fällen zuweilen beim Culturverfahren, zuweilen aber auch durch den Thierversuch bei negativem Culturversuch noch lebende und virulente Pestbakterien nachgewiesen werden. Da nun eine der ersten Anforderungen an einen Schutzstoff die absolute Unschädlichkeit ist, die auf einem Freisein von lebenden Infectionserregern beruht, so musste versucht werden, auf andere Weise eine absolut sichere Abtödtung der Pestbacillen herbeizuführen. Es gelang das mit Sicherheit, wenn die Aufschwemmungen, mochten sie noch so concentrirt sein, während der Zeit der Erhitzung auf 65° C. in einem Schüttelapparat stark der Schüttelung unterworfen wurden. Bei diesem Schüttelungsprocess werden nicht nur die sämmtlichen, in der Aufschwemmung enthaltenen Bakterienconglomerate zerstört, sondern es wird auch die Verteilung der Wärme von vornherein eine gleichmässigere sein. Wenn nun auch bei Anwendung derartiger Vaccins in der Praxis noch zur Sicherheit Carbolsäure hinzugesetzt wird, so ist es doch wohl ein unablässiges Desiderat zu verlangen, dass auch ohne Anwendung von Phenol der Impfstoff nicht im Stande ist, Pest bei den Menschen oder Thieren, denen er einverleibt wird, hervorzurufen. Man wird ja auch nie vollkommen sicher sein, dass die Carbolsäure selbst bei längerer Einwirkung unter Umständen alle Infectionserreger abtödten würde. Es ist dies vor allen Dingen unumgänglich nothwendig zu verlangen, weil ja hochvirulente Culturen zur Verwendung gelangen müssten. Zahlreiche Cultur- und Thierversuche, welche mit derartig hergestellten Vaccins angestellt wurden, haben stets ergeben, dass die im Schüttelapparat bei 65° C. 1 Stunde lang gehaltenen Culturen stets steril und frei von entwickelungsfähigen und infectiösen Pestbacillen waren, selbst wenn die Aufschwemmungen sehr concentrirt waren.

In Wiederholung von Versuchen, die R. Pfeiffer bereits angestellt hatte, wurden Versuche angestellt, die Frage nochmals zu prüfen, inwieweit die immunisirende Kraft, welche Pestculturen innewohnt, in der Gegenwart von Stoffen, die in den Bakterienleibern enthalten sind, zu suchen oder auf solche Stoffe zurückzuführen ist, welche durch die Pestbakterien secernirt werden. Ich verwandte zu solchen Versuchen nicht nur Culturen, welche nach Haffkine's Vorschrift in Erlenmeyer'schen Kölbchen zur Entwickelung gekommen, sondern auch solche, die in flachen Kolben nach Markl's Vorschrift gezüchtet waren. Ein Theil der Culturen war bei 25° C., ein anderer bei ca. 10° C. während eines Monats zur



Entwickelung gebracht. Die ziemlich üppig gewachsenen Culturen wurden zunächst sedimentirt, indem die klare Flüssigkeit von dem bakterienhaltenden Bodensatz durch Centrifugiren abgetrennt wurde. Die klare Flüssigkeit sowohl wie der Bodensatz wurden dann nach der Abtödtung zu activen Immunisirungsversuchen verwandt. Es wurden Versuche an Ratten wie an Meerschweinchen angestellt. Bei den Thieren, welche mit der klaren Flüssigkeit injicirt waren, im Ganzen 11 an Zahl, liess sich am zehnten Tage nach der Injection eine Immunität nicht nachweisen. Von den 6 Meerschweinchen, welche auf die Bauchhaut geimpft wurden, sowie von den 5 Ratten, welche in die Augenbindehaut bezw. ins Maul inficirt wurden, starben 10 an Pest. Das eine ging aus diesen Versuchen wieder zur Genüge hervor, dass die Menge der im Bodensatz befindlichen Bakterien und damit der Immunisirungskraft eine sehr geringe war. Denn von den 7 Thieren, welche mit Bodensatz und zwar recht grossen Mengen, die dem Bakteriengehalt von ca. 100 bis 150 ccm Bouilloncultur nach vierwöchigem Wachsthum entsprachen, desselben injicirt wurden, erwiesen sich bei der Prüfung nur 3 als immunisirt.

Auch in anderer Weise konnte der Nachweis geführt werden, dass die Menge der selbst in alten Bouillonculturen enthaltenen Bakterienleiber eine sehr geringe ist. Wenn man eine solche Bouilloncultur durch länger dauerndes Schütteln im Schüttelapparat möglichst homogen macht und eine in gleicher Weise homogen gemachte Aufschwemmung einer Agarcultur damit vergleicht, indem man die letztere in einem gleich weiten Gefässe wie die erstere so lange verdünnt, bis beide den gleichen Trübungsgrad zeigen, dann findet man, dass eine der Agarculturen, wie ich sie zur Herstellung des Vaccins zu benutzen pflege (in sehr weithalsigen 2 ccm im Durchmesser enthaltenden Röhrchen gewachsen), gleich ist 80 bis 100 ccm im Durchschnitt des nach den Vorchriften von Haffkine gewonnenen Impfstoffes. Der gleiche Trübungsgrad entspricht aber, weil davon abhängig, annähernd der Zahl der in der Flüssigkeit suspendirten Pestkeime; und an diese letzteren wiederum ist die immunisirende Kraft gebunden.

Mit den auf die beschriebene Weise aus Agarculturen hergestellten Vaccins, die aus den durch regelmässige Thierpassagen hochvirulent erhaltenen Culturen hergestellt wurden, sind grössere Versuchsreihen angelegt worden, ohne indessen bis zur Beantwortung der gestellten Fragen durchgeführt zu sein. Denn im Mai 1900 mussten die Versuche abgebrochen werden in Folge des Umbaues der Peststation im Neubau des Institutes für Infectionskrankheiten am Nordufer. Diese Versuche sind jetzt (Januar 1901) wieder aufgenommen worden und bezwecken Klarlegung unter anderen folgender Fragen:



1. Wie lange halten sich die ohne Carbolzusatz aufbewahrten Vaccins wirksam?

2. Sind Ratten oder Meerschweinchen geeigneter zur Prüfung der Wirksamkeit des Vaccins und bei welcher Infectionsweise, beziehungsweise sind beide Thierarten gleich leicht und gleich sicher zu immunisiren?

3. Dauer des Impfschutzes bei Ratten und Meerschweinchen bei verschiedenen Dosirungen des Vaccins.

4. Vergleichende Versuche mit Vaccins von avirulenten Culturen, Haffkine's Bouillon und virulenten Culturen.

Die Pestlaboratorien sind jetzt in dem nordwestlichen Flügel des Institutes für Infectionskrankheiten untergebracht und genau nach den im Reichsgesetzblatt Nr. 46, 1900 (vorläufige Ausführungsbestimmungen zu dem Gesetze betreffend die Bekämpfung gemeingefährlicher Krankheiten vom 30. Juni 1900) gegebenen Vorschriften angelegt. Auch der Betrieb der Station geschieht genau in Uebereinstimmung mit den in der Verordnung aufgestellten Gesichtspunkten. Die Sterilisirung der Thiercadaver, Käfige (ganz von rostfreiem Metall) mit Streu u. s. w. geschieht im Autoclaven bei $1^1/_2$ Atm. Druck und einstündiger Einwirkung. Häufige Controlversuche haben ergeben, dass so sterilisirte Cadaver von kleinen Thieren (Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen) völlig steril sind. Selbst die sporenhaltigen Bakterien des Darminhaltes wurden auf diese Weise getödtet. Die Vernichtung der Cadaver in Schwefelsäure hat sich nicht bewährt. Erst nach der Sterilisirung werden die Cadaver in dem grossen Verbrennungsofen des Institutes verbrannt.



[Institut für Bakteriologie zu Brüssel. — Parc Léopold.]

Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination.

Von

A. Joos,
Docteur en sciences.

Erster Theil.

Erscheinungsbedingungen und Rolle der Salze.

Die Agglutination, deren inneren Mechanismus wir erforschen wollen, ist jene Erscheinung, welche sich in vitro ergiebt, wenn man einer Bakterienemulsion eine hinreichende Dosis von Serum beifügt, welches von einem gegen die in der Emulsion befindlichen Mikroben immunisirten Thiere herstammt.

Diese Erscheinung ist im innersten Zusammenhange mit der gleichartigen Erscheinung, welche sich im Organismus vollzieht, und die unter dem Namen Pfeiffer'sches Phänomen bekannt ist.

Ebenso betrachtet man im Allgemeinen heute die Agglutinationserscheinung als eine sichtbare Wirkung der Widerstandsmittel, welche der Organismus dem Einströmen der Mikroben entgegensetzt. Dies ist thatsächlich die erste Phase des Phänomens Pfeiffer in vitro.

Man hat über die innere Natur des Agglutinationsvorganges vielfach gestritten; keine einzige der zu ihrer Erklärung aufgestellten Hypothesen vermag die Aufgabe vollständig zu lösen.

Wir interessirten uns dafür, die Erscheinungsbedingungen im Einzelnen und insbesondere die Rolle des Chlornatrium zu studiren. Wir konnten auf dem Wege des Experimentes nachweisen, dass die Rolle des Kochsalzes activ ist, und dass es in keiner Weise die Beziehungen zwischen



den Molecularattractionen ändert, die sich in der Mischung befinden. Indem wir uns auf das Ergebniss genauer, durch länger als zwei Jahre fortgesetzter Untersuchungen stützten, konnten wir nachweisen, dass sich die Agglutinationserscheinung auf eine **chemische Verbindung** zurückführt, und dass das Ergebniss dieser Verbindung die Bildung **eines neuen Körpers ist**, dessen specifischen Charakter wir im Nachstehenden erörtern wollen.

---

§ I. Die Erscheinungsbedingungen. Die Rolle des Chlornatrium.

Wenn man, wie wir oben sagten, die zahlreichen Arbeiten überblickt, welche über die Agglutination der Mikroben durch die specifischen Sera publicirt worden sind, so findet man, dass die Autoren, welche die Ursache dieser wichtigen Erscheinung bestimmen wollten, unter einander im höchsten Grade uneinig sind. Halten wir uns zunächst gegenwärtig, dass der relative Werth der verschiedenen für das Zutagetreten der Erscheinung erforderlichen Elemente noch wenig bekannt ist. Die Einen ziehen bloss die specifischen Substanzen in Betracht, welche in den Bakterienzellen und im Serum enthalten sind. Andere haben einen dritten, nicht specifischen Factor eintreten lassen, das Chlornatrium.

Wie immer es sich verhalten möge, so ist es bekannt, dass die Agglutination jedes Mal auftritt, wenn drei Factoren zusammen wirken. Diese Factoren sind: die Zellersubstanz der Mikroben, das Serum und das Salz.

Die Gegenwart dieser drei Factoren ist unerlässlich; fehlt einer von ihnen, so kann die Erscheinung nicht auftreten. Die Nothwendigkeit der beiden ersten Factoren ist evident; die Wichtigkeit des Salzes ist weniger anerkannt. Daher stellten wir uns zunächst die Aufgabe, die Rolle zu erforschen, welche ihm zuzuschreiben ist.

Die erste Frage, um deren Lösung es sich handelt, kann folgendermaassen formulirt werden: Vollzieht sich die Agglutination ohne Zusatz von Salz?

Um darauf antworten zu können, müssen wir zunächst damit beginnen, einerseits eine vollkommen salzfreie Mikrobenaufschwemmung zu erhalten; andererseits eine Serumlösung, welche gleichfalls ganz frei von Chlornatrium ist.

Wenn man in destillirtem Wasser eine Agarcultur von Typhusbacillen aufschwemmt, so erhält man in der Lösung immer auch eine gewisse Menge von Salzen, welche dem Agar entnommen sind, oder von dem condensirten Wasser am Boden der Tube herrührt. Zudem enthalten die



Bakterienleiber immer eine genügend beträchtliche Menge von Salz, so dass sich die Agglutination durch die Beifügung von Serum ergiebt.

Diese Typhusemulsion in destillirtem Wasser kann uns demnach bei unseren Versuchen nicht dienen, und wir müssen suchen, ein Material zu erhalten, in welchem auch die genaueste Analyse die Gegenwart irgend einer mineralischen Substanz nicht erkennen lässt.

Wir konnten dieses Resultat auf zweierlei Art erhalten:

A. Durch die Waschung der Bacillen mit sterilem destillirten Wasser:

Einige Agarculturen werden in destillirtem Wasser aufgeschwemmt und hierauf energisch centrifugirt. Der Niederschlag wird in Wasser angerührt und neuerdings centrifugirt. Die Operation wird so lange wiederholt, bis einige Cubikcentimeter der Emulsion, die mittels einer sterilisirten Pipette entnommen wurden, keine Spur von Salz mehr enthalten. Diese Methode bietet gewisse Unannehmlichkeiten: sie erfordert viele Zeit, weil die lebenden Typhusbacillen sich sehr schwer centrifugiren lassen; wenn man die Mikroben zuerst mittels Toluol oder Chloroform tödtet, so stellt sich der Niederschlag leichter ein.

Ueberdies erlangt man mit den kleinen Centrifugen der Laboratorien (Centrifuge für Hand- oder für Wasserbetrieb) stets nur einen unvollständigen Bodensatz und daher einen sehr beträchtlichen Substanzverlust.

Weiter kann die Behandlung mit einer verhältnissmässig grossen Wassermenge während einer ziemlich langen Zeit nicht ohne schädlichen Einfluss bleiben und die chemische Zusammensetzung der Bakterienzellen alteriren.

Deshalb haben wir eine einfachere Methode angenommen, welche diese Unannehmlichkeiten nicht bietet und uns fortwährend gute Resultate ergeben hat, nämlich die Dialyse.

B. Durch die Dialyse.

Der Apparat, welchen wir im Allgemeinen anwenden, ist ein kleiner Dialysator von $3^1/_2$ cm Breite und 10 cm Höhe, auf ein Glasrohr zugerichtet, welcher angepasst und mittels eines Wattepfropfens geschlossen ist. Das Ganze wird bei einer Temperatur von 100° sterilisirt (Koch'scher Dampfsterilisator). Wir führen daselbst eine dichte Aufschwemmung von Typhusbacillen ein, welche der Art präparirt ist, dass $1^1/_2$ bis 2 ccm Emulsion einer Agarcultur entsprechen. Alles wird in destillirtes, häufig erneuertes Wasser gestellt, oder, was noch besser ist, in ein eigenes Gefäss „ad hoc",



in welchem wir einen langsamen Durchstrom von destillirtem Wasser unterhalten. Mittels dieser Anordnungen erhält man in sehr kurzer Zeit eine Emulsion von Typhusbacillen, welche vollständig salzfrei ist.

Wenn diese Operation gut durchgeführt ist, so alterirt sie in Nichts die Vitalität der Mikroben.

Wenn man einige Oesen der Emulsion auf Agar überträgt, so constatirt man, dass sie rein geblieben ist, und dass die Bakterien sich sehr gut entwickeln. Unter dem Mikroskope im hängenden Tropfen untersucht, sind die Bakterien sehr beweglich; sie lassen sich sehr leicht durch die gewöhnlichen Färbemethoden färben und die Methode der Geisselfärbung zeigt, dass diese Organe gleichfalls intact sind.

Hat man einmal diese salzlosen Bacillenemulsion erhalten, so handelt es sich darum, gleichfalls eine salzfreie Lösung von specifischem Serum zu gewinnen. Wenn das Serum sehr activ ist, dann genügt es wohl häufig, dasselbe mit destillirtem Wasser auf die gewünschte Verdünnung zu bringen, um die Wirkung der aufgelösten Salze nicht mehr fühlbar erscheinen zu lassen. Wenn das Serum jedoch wenig activ oder von mittelmässiger Stärke ist, so ist es unerlässlich, dasselbe mittels der Dialyse von allen krystalloïden Substanzen zu befreien, welche es enthält. Wir wenden zu diesem Behufe denselben Apparat an, der uns zur Dialyse der Bakterienemulsion gedient hat.

Die agglutinirende Kraft des Serums wird durch die Dialyse wenig beeinflusst; denn man weiss übrigens, dass das Agglutinin nicht dialysirbar ist. Wenn man Sorge getragen hat, die Ursachen der Verunreinigung zu vermeiden, so constatirt man, dass das Serum, welches während mehrerer Tage dialysirt hat, nichts von seiner agglutinirenden Kraft eingebüsst hat. Höchstens kann man bisweilen bemerken, dass die Agglutination sich ein wenig langsamer in den Tuben vollzieht, welche dialysirtes Serum enthalten, als dies in den Tuben erfolgt, welche das gewöhnliche Serum einschliessen.

Wenn wir einerseits das dialysirte Serum und andererseits die dialysirte Bakterienemulsion besitzen, so haben wir die gewünschten Elemente, um die Rolle zu studiren, welche die Salze in der uns beschäftigenden Erscheinung spielen.

1. Kann sich die Agglutination ohne Beisein der Salze, durch die directe Einwirkung der specifischen Serumsubstanz auf die mikrobe Zellensubstanz vollziehen?

Versuch A. Nehmen wir ein Reagensglas, in welches wir 2 ccm einer dialysirten Typhusbacillenaufschwemmung, ungefähr einer Agarcultur entsprechend gegossen haben. Wir fügen eine Dose von vollständig salz-



freiem Serum bei, welche hinreicht[1], um unter gewöhnlichen Umständen eine rapide Agglutination hervorzurufen (d. h. wenn 0·7 Procent NaCl vorhanden ist), und eine Menge Wasser, welche hinreicht, um 10 ccm zu machen. Setzen wir dies alles in den Brutschrank und belassen es durch zwei Stunden bei einer Temperatur von 37°. Nach Ablauf dieser Zeit constatiren wir, dass die Emulsion vollkommen homogen geblieben ist und keine Spur von Flocken oder einem Niederschlage zeigt. Untersucht man die Mischung 24 oder 48 Stunden später, so sieht man, dass nichts geändert ist und dass die Flüssigkeit immer gleichmässig trübe bleibt.

Wenn wir die Serumdosis vermehren, wenn wir sie auf das Doppelte, Dreifache, Fünffache u. s. w. erhöhen, so bemerken wir darum doch nicht, dass die Bacillen sich mehr agglutiniren.

Die beiden Elemente, Bacillenkörper und specifische Serumsubstanz, welche ursprünglich zu genügen scheinen, um die Agglutinationserscheinung hervorzurufen, erzeugen sie nicht. Die agglutinirende Serumsubstanz zeigt sich bei diesem Experimente vollkommen unthätig und es ist klar, dass es eines dritten Körpers bedarf, um das Phänomen hervorzurufen.

Diese dritte Substanz, welche den specifischen Substanzen ihre Activität zurückgeben soll, kann keine andere als das Salz sein, da wir wissen, dass eine Typhusbacillenaufschwemmung in physiologischer Lösung sich rasch unter der Wirkung des Serums agglutinirt.

Und in der That genügt es, dem Gemisch eine Spur von Salz beizumengen, um die charakteristischen Flocken sich bilden zu sehen. Dieser Versuch zeigt daher, dass der Agglutinationsvorgang nur dann auftreten

[1] Die Serumdosen, welche zur Agglutination hinreichen, können sehr verschieden sein. Wenn 0·001 Serum eine Cultur agglutinirt, können 0·002, 0·003 u. s. w. gleichfalls eine Cultur in derselben Zeit wahrnehmbar agglutiniren. Wir werden unter einfacher agglutinirender Dosis die Minimaldosis von Serum verstehen, welche in einer Typhusemulsion (einer Cultur in 10 ccm) in ungefähr 20 bis 30' grobe charakteristische Flocken erzeugt. Die Tube darf nach Verlauf einer halben Stunde nur mehr dichte Flocken enthalten, welche anfangen, sich abzusetzen, derart, dass der Niederschlag in weniger als einer Stunde vollständig ist. In diesem Falle sieht man die ersten kleinen Flöckchen erst nach einem Contact von 5 bis 10 Minuten erscheinen. Vollzieht sich die Agglutination rascher, so erachten wir, dass die beigefügte Dosis Serum zu stark war.

Wir haben diese Einheit angenommen, weil der Agglutinationsvorgang unter diesen Bedingungen am typischsten ist. Ist die Agglutination zu schnell ist, so verfolgt man zu schwer ihre Phasen; ist sie dagegen zu langsam, so verliert sie die Präcision. Mit einer Serumdosis, welche eine Cultur in 2 Stunden agglutinirt (die von mehreren Autoren angenommene Grenze), erfasst man nicht gut den Beginn der Erscheinung; die ersten kleinen Flocken sind fast unmerklich, und der Niederschlag vollzieht sich zu langsam.



kann, wenn drei Substanzen zusammentreten. Diese Substanzen sind die agglutinirbare Mikrobensubstanz, die agglutinirende Serumsubstanz und das Salz. Fällt eine von ihnen aus, so wird die Agglutination unmöglich.

Unter diesen drei Substanzen finden wir zwei specifische, die agglutinirbare und die agglutinirende Substanz, und eine andere, nicht specifische, das Salz. Diese letztere ist ebenso unerlässlich als die beiden ersten, doch die Art ihres Einwirkens bleibt ein wenig dunkel.

Bevor wir untersuchen, welche Rolle die Salze in der Agglutinationserscheinung spielen, wollen wir die Aufmerksamkeit auf ein sehr interessantes Factum lenken.

Wir haben soeben gesehen, dass die specifischen Substanzen keine Wirkung auf einander hervorrufen in Abwesenheit des NaCl. Mann könnte glauben, dass sie vollständig isolirt bleiben, die agglutinirende Substanz aufgelöst in der Flüssigkeit, und die agglutirbare Substanz unmodificirt im Bacillenleibe bleibt. Indessen verhält es sich nicht so. Die agglutinirende Substanz findet sich rasch durch die agglutinirbare gebunden und kann nicht mehr in der Lösung aufgefunden werden; jedoch ist der Anblick der Bacillen nicht modificirt. Dieses lässt sich leicht constatiren.

Wenn man ein wenig salzfreie Typhusemulsion in hängendem Tropfen unter dem Mikroskope untersucht und ihr eine Quantität ebenso salzfreie Serumlösung beigesetzt hat, welche hinreicht, um in Gegenwart von Chlornatrium eine rapide Agglutination hervorzurufen, so sieht man, dass die Bacillen immer isolirt und beweglich bleiben. Nichts an deren äusserem Anblicke weist auf die Gegenwart der agglutinirenden Substanzen hin. Färbt man sie nach den gewöhnlichen Methoden, so unterscheidet sie nichts von den normalen Bacillen. Auf Agar oder in Bouillon eingesäet entwickeln sie sich rasch und die Geisseln lassen sich durch die üblichen Verfahren leicht färben.

Diese Bacillen dürfen indessen nicht mehr als normale Bacillen angesehen werden, da sie die agglutinirende Substanz absorbirt haben, welche sich in der Flüssigkeit befand.

Versuch B. Dieses Factum lässt sich leicht nachweisen, wenn man die salzfreie Mischung centrifugirt, oder noch besser, sie durch eine kleine Filtrirkerze filtrirt. Wenn man der filtrirten Flüssigkeit 0·7 Procent NaCl und eine Typhuscultur beifügt, so bemerkt man nicht die geringste Spur von Agglutination. Wenn sich demnach die agglutinirende Substanz in der Lösung nicht mehr wiederfindet, so muss zugegeben werden, dass sie sich auf den Bakterienzellen fixirt hat, da man weiss, dass sie leicht die der Filtrirkerze durchdringt.



Man kann übrigens direct nachweisen, dass die Typhusbacillen die agglutinirende Substand binden, ohne selbst alterirt zu werden, wenn sich kein Salz in der Mischung befindet.

Versuch C. Man centrifugirt eine Mischung von dialysirter Emulsion und dialysirtem Serum. Sobald der Bakterienniederschlag sich gebildet hat, giesst man die oben schwimmende Flüssigkeit ab, wischt die Tube sorgfältig mit Filtrirpapien ab und rührt den Niederschlag in 10 ccm physiologischer Lösung ein. Hier vollzieht sich nun eine rasche Agglutination. Die Flüssigkeit, welche man nach der Centrifugation von dem Bakterienniederschlag abgegossen hat, ergiebt, wenn man NaCl und eine Cultur beisetzt, keine Agglutination.

Diese Experimente thun daher dar, dass die agglutinirende und die agglutinirbare Substanz für einander eine starke Affinität besitzen. Ohne Salze einigen sie sich, fixiren sie sich auf einander, doch zeigt sich diese Einigung durch kein äusseres Merkmal. Man kann selbst Dosen von Serum beifügen, welche zwei oder drei Mal stärker sind als jene, welche unter normalen Umständen die Agglutination hervorruft, ohne dass die geringste Spur von agglutinirender Substanz in der filtrirten Flüssigkeit entdeckt werden kann. Es ist jedoch eine Grenze vorhanden, über welche hinaus die agglutinirende Substanz in das Filtrat eindringt. Eine bestimmte Menge von Mikroben kann sich nur mit einer begrenzten Quantität der agglutinirenden Substanz vereinigen; ist diese Quantität erreicht, so sind die Bakterien gesättigt, und was man noch hinzufügt bleibt ohne Verwendung. So erleiden Bakterien, welche eine beträchtliche Menge agglutinirender Substanz gebunden haben, unter der Wirkung derselben keine Modification. Sie behalten alle ihre mikroskopischen Merkmale, und ihre Aufschwemmung unterscheidet sich in Nichts von der gewöhnlichen. Die Einführung von NaCl, selbst in minimaler Quantität, ändert den Anblick der Mischung vollständig. Je nach der Menge des beigefügten Salzes sieht man in den Tuben sich mehr oder weniger schnell Flocken bilden. Unter dem Mikroskope sieht man die Bakterien sich fast augenblicklich immobilisiren und sich in Haufen sammeln.

Dieser Versuch ist sehr interessant. Wenn man in einen hohlen Objectträger im hängenden Tropfen ein wenig Typhusemulsion mit Serum versetzt (alles dies vollkommen salzfrei), so sieht man die Bacillen sich nach allen Richtungen schnell bewegen. Wenn man nun vorsichtig einen Tropfen einer verdünnten NaCl-Lösung hinzufügt, so sieht man die Bacillen, welche vom NaCl erreicht wurden, sich sofort immobilisiren, und in wenigen Augenblicken sind alle Bakterien, welche sich in der Präparation befinden, vollkommen unbeweglich geworden.



Das Chlornatrium zeigt sich demnach hier als das wahrhafte Determinans der Erscheinung. Es genügt, eine Spur von NaCl mit den mit Agglutinin imprägnirten Bacillen in Contact zu bringen, um eine tiefgehende Aenderung in den Eigenschaften der letzteren sich vollziehen zu sehen. Diese Aenderung, welche in den Tuben erst am Ende einer gewissen Zeit sichtbar wird, ist jedoch eine sofortige, wovon man sich überzeugen kann, wenn man die Erscheinung, wie wir es gethan haben, unter dem Mikroskope beobachtet.

Der Bacillus, welcher lediglich Agglutinin enthält, erleidet keine wahrnehmbare Modification; sobald er aber gleichzeitig NaCl enthält, so erleidet er augenblicklich eine so tiefe und sofortige Aenderung, dass es den Anschein hat, als ob die eigenthümliche organische Natur des Bacillus vollständig verschwände und mit einem chemischen Niederschlage identisch würde. Diese Umwandlung vollzieht sich nicht (wir können diesen Punkt nicht genug betonen), im Augenblicke, wo sich das Agglutinin im Contacte mit der agglutinirbaren Substanz befindet, sondern erst im Momente, wo sich diese beiden mit dem Salze treffen. Es vollzieht sich sodann ein Phänomen, welches identisch ist mit demjenigen, welches die Bildung einer unlöslichen Verbindung in der Chemie begleitet. Es ist diese neue Verbindung, welche sich in den Tuben unter dem charakteristischen flockigen Anblicke darbietet.

Wenn wir die innere Seite dieses Phänomens betrachten, müssen wir zugeben, dass in einer salzfreien Bacillenemulsion die agglutinirende Substanz sich mit der agglutinirbaren verbindet, um eine lösliche Verbindung zu ergeben. (Wir sehen also die Bakterienaufschwemmung als eine echte Lösung an.) Fügt man dieser Verbindung eine bestimmte Quantität NaCl bei, so wird die Verbindung unlöslich und stellt sich sodann in der ihm eigenthümlichen Gestalt eines flockigen Niederschlages dar.

Die Salzmengen, welche genügen, um die Erscheinung hervorzubringen, sind so geringfügig, dass man naturgemäss veranlasst wird, die Existenz einer wahren chemischen Reaction zuzugeben. Es besteht keinerlei Missverhältniss zwischen dem Mengenverhältnisse des Salzes, dem Agglutinin und der agglutinirbaren Substanz, welche erforderlich, sind um den Niederschlag zu erzeugen. Diese Hypothese findet ihre Bekräftigung in dem folgenden Versuche:

Versuch D. Nehmen wir eine Anzahl von Tuben, in welche wir eine bestimmte Menge dialysirter Typhusemulsion geben und eine ebenso bestimmte Menge gleichfalls dialysirten Serum (eine Dosis, welche mit 0·7 Procent NaCl eine rapide Agglutination ergeben würde) hinzufügen und so viel Wasser beimengen, als zur Ausfüllung von 10 ccm nöthig ist.



Hierauf fügen wir gradweise steigende Dosen von NaCl 1, 2, 3 ... 10 ... 20, 50^{mg} und setzen das Ganze in den Brütschrank bei 37°.

Zu allererst bemerkt man, dass in den Tuben, welche nur wenig Salz enthalten, die ersten Flocken nur langsam zum Vorschein kommen, während sich die Anfangserscheinung in den anderen sehr rasch wahrnehmen lässt. Wenn man jedoch die Tuben am Ende einer gewissen Zeit untersucht, da keine Flocken mehr in der Flüssigkeit schweben und der ganze Niederschlag sich bereits zu Boden gesetzt hat, so sieht man, dass die Volumen dieses Niederschlages in sehr bedeutender Weise variiren. Er ist um so beträchtlicher, je mehr Salz in der Mischung enthalten ist. Es tritt übrigens ein Moment ein, wo er sich nicht mehr vergrössert, wenn auch die Salzmenge grösser wird, nämlich dann, wenn die Mischung einen Ueberschuss von Salz enthält und die ganze niederschlagbare Substanz durch die Menge des beigefügten Serums zum Niederschlage gebracht worden ist.

In den Tuben, welche wenig NaCl enthalten[1], bemerkt man eine gewisse Abstufung in dem Volumen des Niederschlages und es scheint dieser im Verhältnisse zu der Salzmenge zu stehen, welche die Mischung enthält. In den ersten Tuben, welche am wenigsten NaCl enthalten, ist der Niederschlag unvollständig, die oben schwimmende Flüssigkeit ist noch mehr oder weniger trübe. Wenn wir sie vorsichtig abgiessen und eine neue Menge NaCl beifügen, so erhalten wir eine neue Agglutination. Dies beweist, dass wohl Agglutinin und agglutinirbare Substanz im Ueberschusse, jedoch zu wenig Salz vorhanden war, um das Ganze zum Niederschlag zu bringen.

Nach diesen Versuchen scheint daher eine beständige Beziehung zwischen den Substanzmengen, welche in die Verbindung eintreten, und der erhaltenen Niederschlagsmenge zu bestehen. Diese Beobachtungen sprechen offenbar zu Gunsten der chemischen Natur der Erscheinung. Wir werden in einem anderen Theile dieser Arbeit untersuchen, ob die Verbindung der erwähnten drei Substanzen eine wahre chemische Verbindung ist. Vorerst haben wir noch zu beweisen, dass das Salz thatsächlich in die Verbindung eintritt und dass seine Action die molecularen Attractionsverhältnisse der Mischung nicht modificirt.

---

[1] Diese enge Wechselbeziehung, welche zwischen zugegebener Salzmenge und dem erhaltenen Volumen des Niederschlages besteht, tritt nur dann zum Vorschein, wenn die beigefügte Dosis NaCl sehr gering ist. Ueber eine gewisse Grenze hinaus ist das Quantum utile für alle Tuben das gleiche, weil alsdann alle einen Ueberschuss enthalten und man keinerlei Unterschied in den Volumen der einzelnen Niederschläge mehr wahrnehmen kann.

§ II. Die Rolle des Salzes ist activ und nicht passiv.

Wir können auf zweierlei Art nachweisen, dass das Salz eine active Rolle in dem Agglutinationsvorgange spielt und dass durch sein Hinzutreten keineswegs eine Veränderung der Molekular-Attractionsbeziehungen der Mischung, so wie Bordet behauptet, verursacht wird. Wir werden beweisen:

1. Dass das Salz in die Verbindung der agglutinirenden und agglutinirbaren Substanz eintritt.

2. Dass die Agglutination sich selbst dann vollzieht, wenn in der Flüssigkeit, in welcher man das Phänomen erzeugt, kein Salz aufgelöst ist.

Wir haben bereits einige Versuche citirt, welche gestatten, das Eintreten des Salzes als ein Factum chemischer Ordnung zu betrachten. Wenn wir auf das im vorigen Paragraphen zuletzt erwähnte Experiment zurückgreifen, so können wir nicht nur darthun, dass das Volumen des Niederschlages im Verhältnisse zur beigefügten Menge von NaCl steht, sondern dass auch die Bildung des Niederschlages selbst in innerem Zusammenhange mit der Salzmenge sich befindet. Der Niederschlag vollzieht sich um so rascher, je beträchtlicher die Dosis NaCl ist.

Wenn wir eine Reihe von Tuben präpariren, welche je eine gleiche Menge von salzfreiem Serum und eben solcher Typhusemulsion enthalten, und wenn wir stufenweise steigende, jedoch immer nur sehr kleine Dosen NaCl hinzufügen, so constatiren wir, dass die Agglutination in dem Tubus, welcher wenig NaCl enthält, sehr langsam vor sich geht, während sie in denjenigen, welche mehr NaCl enthalten, viel rascher (und wie wir gesehen haben, viel vollständiger) ist. Dieser Versuch beweist allerdings noch nicht, dass das Salz thatsächlich in den gebildeten Niederschlag eintritt. Man weiss, dass gewisse physische Erscheinungen, wie z. B. die der Sedimentirung in enger Beziehung zu den Salzmengen stehen, welche sich in der Lösung befinden. Die in der Flüssigkeit suspendirten Partikelchen setzen sich um so rascher ab, eine je grössere Quantität gewisser Salze sich in dieser Flüssigkeit gelöst finden. Indessen beobachtet man bei diesen Sedimentirungserscheinungen niemals einen so engen Zusammenhang zwischen der Menge der beigefügten Salze und der Schnelligkeit der Bildung oder dem Volumen des erhaltenen Niederschlages. Zudem bewirken sehr schwache Mengen von Salzen keinerlei Aenderung in der Mischung.

Um nachzuweisen, dass das Salz thatsächlich in die Verbindung eintritt, müsste man die Quantität, welche sich in der Lösung befindet, vor und nach der Agglutination dosiren können. Dieses Verfahren ist wenig praktisch, zunächst, weil die utilisirte Menge NaCl sehr



minimal ist, und zweitens, weil die Bakterien immer gewisse Theile der salzigen Substanzen absorbiren, welche in der Flüssigkeit, in der sie aufschwemmen, aufgelöst sind. Man müsste die Dosirung vervielfältigen und je nach der Differenz die Salzmenge berechnen, welche während der Agglutination absorbirt wurde. Da diese Mengen sehr minim sind, so sind zahlreiche Irrungen zu befürchten.

Die directe Nachsuchung und die Dosirung des in den agglutinirten Bakterienzellen enthaltenen NaCl im Verhältnisse zu der Menge des Salzes. welches Normalbacillen enthält, die durch eben dieselbe Zeit mit derselben Lösung in Contact waren, kann ebenfalls keine besseren Resultate ergeben.

Wir glauben, dass es genügen wird, nachzuweisen, dass die agglutinirten Bacillen mehr NaCl absorbirt haben, als die gewöhnlichen (Normal-) Bacillen, um zu beweisen, dass das Salz wirklich in die Verbindung eintritt.

Wir beweisen vorerst, dass das aufgelöste Salz aus der Lösung gezogen wird.

Versuch E. Nehmen wir eine Emulsion von Typhusbacillen mit Serum versetzt und absolut salzfrei. Fügen wir eine kleine Dosis von NaCl hinzu und setzen wir das Ganze während zwei Stunden in den Brütschrank; hierauf filtriren wir über einer kleinen Filtrirkerze. Wenn wir einen Tropfen NO_3Ag-Lösung der filtrirten Flüssigkeit beifügen, so sehen wir, dass die grössere Partie des Salzes verschwunden ist. Das Experiment wird besonders typisch, wenn man gleichzeitig eine andere Tube nimmt, welche dieselbe Dosis NaCl in derselben Quantität Wasser aufgelöst, jedoch keine Mikroben enthält. Wenn man dann der filtrirten Flüssigkeit und der NaCl-Lösung einen Tropfen von NO_3Ag hinzufügt, so bemerkt man einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden Lösungen.

Da man uns wahrscheinlich einwenden wird, dass die Bakterienzellen die salzigen Substanzen absorbiren, welche in den Flüssigkeiten aufgelöst sind, in denen sie aufschwemmen, so können wir das Experiment noch präciser gestalten:

Versuch F. Nehmen wir drei Tuben, welche genau dasselbe Quantum NaCl enthalten. Setzen wir in die erste eine Typhuscultur in 2 oder 3 ccm Wasser verdünnt (und vollständig salzfrei) und eine agglutinirende Dosis von gleichfalls salzfreiem Serum. Setzen wir in die zweite dieselbe Dosis derselben Emulsion, jedoch ohne Serum. In die dritte Tube setzen wir endlich weder Emulsion, noch Serum. Darauf setzen wir zu allen dreien so viel destillirtes Wasser, dass jede die gleiche Menge Flüssigkeit enthält. Nach zweistündigem Contacte verdünnen wir alle bis auf 10 ccm



und filtriren alle durch eine kleine Porzellankerze. Den filtrirten Flüssigkeiten setzen wir einen Tropfen NO_3Ag-Lösung zu. Sofort constatiren wir eine beträchtliche Differenz des Anblickes, welchen sie darbieten. Die Flüssigkeit der ersten Tube wird kaum opalescent, die zweite ist schon viel trüber, die dritte zeigt eine sehr merkliche Trübung und selbst einen leichten Niederschlag, wenn die Menge NaCl nur ein wenig bedeutend ist.

Dieses Experiment zeigt uns demnach:

1. dass die Mischung von Bakterien und Serum im Zustande der Agglutination eine gewisse Menge des NaCl weggenommen hat, welches sich in Lösung befindet;

2. dass die der Lösung entzogene Menge von NaCl grösser als diejenige ist, welche eine dem Niederschlage gleiche Quantität von Bacillenemulsion in derselben Zeit entziehen kann.

Bei diesen Versuchen versetzen wir das Salz und die Mikroben in sehr wenig Wasser (2 oder 3 ccm), um eine typische Agglutination zu erzielen und um das Experiment noch genauer zu machen. Man muss hier mit sehr minimalen Quantitäten NaCl operiren (z. B. 1 mg auf 10 ccm). Wenn wir dieses 1 mg in 2 ccm Emulsion setzen, so werden wir eine bestimmte Agglutination haben. Setzen wir es dagegen in 10 ccm, so wird die Agglutination unvollständig sein, da die Verbindung nicht genügend Salz vorfindet (dasselbe ist zu sehr verdünnt), um die ganze präcipitable Substanz niederzuschlagen. Man wird noch einen Unterschied wahrnehmen können zwischen der Flüssigkeit, in welcher sich die Agglutination vollzogen hat, und derjenigen, wo die Bakterien unverändert geblieben sind; jedoch dieser Unterschied ist weniger beträchtlich. Wenn wir andererseits mehr NaCl (0·01 in 10 ccm, um in denselben Proportionen zu bleiben) hinzufügen, so kann kein Unterschied mehr wahrgenommen werden, denn die Trübung ist in allen Tuben zu stark. Es bedarf sodann einer starken Verdünnung, um die Veränderung zu ermessen, welche in der Mischung aufgetreten ist, und auch da ist dieselbe fast immer unmerklich, da die Salzmenge, welche in die Verbindung eintritt, nur ein äusserst geringer Theil derjenigen ist, die sich in der Flüssigkeit aufgelöst findet.

Bei unserer modus operandi lassen wir der Mischung von Bakterien und Serum eine Quantität NaCl zukommen, welche genügt, um rapide und nahezu vollständige Agglutination herbeizuführen. Die Bacillen finden gleichfalls in der Lösung eine mehr als hinreichende Menge von NaCl, von der sie den ihnen nothwendigen Theil absorbiren. Beide (Bacillen und Serum und Bacillen allein) befinden sich demnach in vollkommen normalen Verhältnissen, und wenn wir verdünnen und hierauf rasch filtriren, so können wir sehr deutlich die Menge von NaCl schätzen, welche in beiden Fällen absorbirt wurde.



Nachdem dargethan worden ist, dass bei der Agglutination eine gewisse Menge von NaCl verschwindet, müssen wir zur Bekräftigung unserer Hypothese einer chemischen Verbindung auch nachweisen, dass die Menge von NaCl, welche aus der Lösung verschwindet, im selben Maasse zunimmt, als der Niederschlag sich schneller bildet und vollständiger ist.

Versuch G. Wenn wir auf die oben angezeigte Art zwei Tuben vorbereiten, deren eine 1 ^{mg} und deren andere 2 ^{mg} NaCl und welche die gleiche Menge Bacillenemulsion und Serum (einen Ueberschuss) enthalten, so sehen wir bald grobe Flocken sich bilden. Nach einigen Stunden Contact verdünnt man auf 10 ^{ccm} und filtrirt rasch durch eine kleine Filtrirkerze. Gleiche Filtrate erhalten einen Tropfen NO_3Ag-Lösung. Man bemerkt, dass die beiden Flüssigkeiten dieselbe Trübung aufweisen; sie ist in der Lösung von 2 ^{mg} NaCl kaum noch wahrnehmbar als in derjenigen, welche nur die Hälfte enthält. Dies beweist, dass, wenn der Niederschlag vollständiger ist, mehr Salz dazu nöthig ist.

Es besteht demnach eine enge Beziehung zwischen dem erlangten Niederschlage und der Salzmenge, die nöthig ist, um ihn zu erzeugen.

Auch auf folgende Art kann bewiesen werden, dass das NaCl wirklich in die Verbindung von Agglutinin und specifischer mikroben Substanz eintritt.

Versuch H. Nehmen wir eine salzfreie Typhusemulsion und fügen wir ihr eine nicht zu beträchtliche Dosis Serum und eine Menge NaCl bei, welche hinreicht, um die Agglutination hervorzurufen. Sobald sich der Niederschlag agglomerirter Bacillen am Grunde der Tube gesetzt hat, so centrifugiren wir energisch, um so einen compacten Bodensatz zu erhalten, giessen die oben schwimmende Flüssigkeit ab, trocknen die Wände der Tube sorgfältig mit Filtrirpapier ab; hierauf rühren wir den Niederschlag in destillirtem Wasser ein. Nun bildet sich keine Ablagerung.

Wenn wir jedoch durch die Filtrirkerze filtriren und das NaCl in der filtrirten Flüssigkeit suchen, so sehen wir, dass sich ein Theil des NaCl, das sich mit den Bakterien niedergeschlagen hat, wieder in der Flüssigkeit aufgelöst hat. Der Niederschlag hat demnach nicht mehr die Zusammensetzung, die er haben soll, doch genügt es, ihm das NaCl, welches er verloren hat, wiederzugeben, um ihn seine ursprüngliche Gestalt wieder annehmen zu lassen.

In der That, wenn wir der trüben Flüssigkeit NaCl beifügen, so sehen wir, dass sich wieder meist mehr grosse Flocken bilden, und zwar je nach der Menge des zugefügten Salzes. Ganz geringe Mengen genügen schon, um eine sehr rasche Reagglutination hervorzurufen.



Die logische Schlussfolgerung, welche aus diesem Versuche gezogen werden kann, ist offenbar folgende: Das NaCl tritt wahrhaftig in die Verbindung der agglutinirenden und agglutinirbare Substanz ein. Der so erhaltene Niederschlag ist ziemlich unbeständig, weil er einen Theil des NaCl, welches er enthält, an das Wasser abgiebt. Es genügt jedoch, wenn man ihm dieses NaCl wiedergiebt, um ihm gleichzeitig alle seine Eigenschaften zurückzugeben.

Das NaCl muss sich daher nicht in der Lösung, sondern in der Verbindung selbst befinden, um den Agglutinationsvorgang hervorzurufen.

Können wir nun dieses Factum in noch eclatanterer Weise darthun und die Agglutination in einer salzfreien Lösung erhalten? Dies ist möglich und wir werden es in der Folge beweisen. Vorher wollen wir jedoch einen interessanten Versuch erwähnen, welcher noch des Mehreren und zur Evidenz die active Rolle des Salzes darthut.

Versuch J. Nehmen wir 2 ccm unserer dyalysirten Typhusemulsion, setzen wir 1 ccm verdünntes und dialysirtes Serum zu und halten wir das Ganze während zwei Stunden in den Brütschrank. Andererseits nehmen wir 2 ccm derselben Emulsion, setzen 1 ccm Wasser und 1 cg NaCl zu und halten dies gleichfalls während zwei Stunden in den Brütschrank. Am Ende dieser Zeit setzen wir der ersten Tube 7 ccm destillirtes Wasser und 1 cg NaCl zu, der zweiten Tube hingegen 6 ccm destillirtes Wasser und 1 ccm verdünntes Serum und stellen dies alles in die Brütkammer zurück. Nach 25 bis 30 Minuten hat in der zweiten Tube die Agglutination begonnen, während in der ersten noch nichts zu bemerken ist.

Versuch I. Man kann dieses Experiment noch prägnanter gestalten, wenn man eine erste Serie von Tuben nimmt, welche 2 ccm dialysirter Emulsion (salzfrei) und 1 ccm verdünntes, salzfreies Serum enthalten. In einer zweiten Reihe setzen wir 2 ccm Emulsion und variable Mengen von NaCl (z. B. 1, 2, 5, 7 ... 10 mg) an. Nach zweistündigem Contacte fügt man der ersten Serie NaCl (1, 2, 5, 7 ... 10 mg) und der zweiten verdünntes Serum (1 ccm) bei und giesst destillirtes Wasser auf, bis in allen Tuben 10 ccm enthalten sind. In den Tuben der zweiten Serie vollzieht sich die Agglutination rasch; jene welche 10 und 7 mg NaCl enthalten, zeigen schon kleine Flöckchen in der Flüssigkeit, während die entsprechenden Tuben der ersten Serie einförmig trübe sind und keine Veränderung aufweisen. Nach und nach vollzieht sich die Agglutination in allen Tuben dieser zweiten Serie und wir sehen, dass sich in allen, je nach der in dem Gemische enthaltenen Salzmenge, ein mehr oder minder beträchtlicher Bodensatz bildet. In den Tuben der ersten Serie sehen wir gleichfalls Flocken und Niederschläge sich bilden, doch geschieht dies viel langsamer und sie setzen sich



weniger rasch ab. In den Tuben dieser Serie, welche 1 und 2 mgrm NaCl enthalten, zeigt sich nichts, selbst wenn die Niederschläge in den entsprechenden Tuben der anderen Serie sich bereits vollständig abgesetzt haben, und erst nach einigen Stunden sieht man darin einen leichten Bodensatz sich bilden.

Es werden demnach Mikroben, welche Zeit hatten, sich während einiger Stunden mit Agglutinin zu verbinden, und welche thatsächlich der Lösung alles Agglutinin entzogen haben, welche sie enthielt (was sich leicht nachweisen lässt, wenn man die Mischung auf Kerze filtrirt und der filtrirten Flüssigkeit NaCl und eine Cultur zusetzt), es werden, sagen wir, diese Mikroben, wenn man NaCl zusetzt, weniger rasch agglutinirt als jene, welche man erst mit NaCl geladen hat und denen man dann Serum zusetzt.

Durch dieses Experiment charakterisirt sich die chemische Natur des Phänomens noch besser. Wäre die Agglutination eine rein physikalische Erscheinung, so hätten wir sie ebenso rasch auch in den entsprechenden Tuben der beiden Serien erhalten müssen, da sie dieselben Dosen der gleichen Elemente enthalten. Wenn andererseits die Rolle der agglutinirenden Substanz darin besteht, die Bakterien in inerte Partikelchen zu verwandeln, wie man sagte, auf denen es sich fixirte, so hätten wir in der ersten Serie eine raschere Agglutination beobachten müssen, da die Bakterien während einer verhältnissmässig langen Zeit in Contact mit einer genügend concentrirten Lösung agglutinirender Substanz gestanden haben. Nun hat sich aber gerade das Gegentheil gezeigt.

Die „Theorie Physique“ von Bordet kann nach diesen Versuchen nicht mehr behauptet werden. Die Thatsache, dass die Agglutination nicht von der absoluten Quantität des Salzes, welches sich in der Mischung befindet, sondern von der Quantität abhängt, welche bereit ist, sich zu verbinden, kann auch noch durch den folgenden Versuch nachgewiesen werden, welcher gewissermaassen die Ergänzung zu dem vorangegangenen bildet.

Versuch K. Nehmen wir zwei Tuben, in welche wir eine gleiche Menge dialysirter Typhusemulsion, z. B. 2 ccm, setzen. Fügen wir in Tubus I 7 ccm destillirtes Wasser und 2 mgrm NaCl; in Tubus II 2 mgrm NaCl ohne Wasser bei. Diese Mischung lassen wir einige Zeit stehen. Es ist evident, dass die Bacillen des Tubus I nur eine geringere Quantität NaCl absorbiren können, als die Bacillen des Tubus II, weil die Lösung, in welcher sie schwimmen, bedeutend verdünnter ist. Andererseits wird, wenn wir die Flüssigkeit des Tubus II auf 9 ccm erhöhen, so diese weniger reich an aufgelösten NaCl sein als diejenige des Tubus I, weil die darin befindlichen Bacillen mehr davon aufnehmen konnten.



Nach einiger Zeit Contact, setzen wir dem Tubus II 7 ccm destillirtes Wasser und 1 ccm verdünntes und dialysirtes Serum zu. Gleichzeitig fügen wir im Tubus I 1 ccm Serum bei.

Wir sehen nun, dass sich die Agglutination im Tubus II sehr rasch, im Tubus I aber viel langsamer vollzieht.

Dieser Versuch zeigt uns deutlich, dass sich das NaCl nicht in der Lösung, sondern im Bacillenkörper selbst befinden muss. Wir haben in unseren beiden Tuben ganz genau gleiche Quantitäten derselben Elemente; doch sehen wir das Phänomen sich mit sehr veränderlicher Intensität vollziehen. Wir haben bereits gesehen, dass die agglutinirende Substanz sich augenblicklich auf der agglutinirbaren befestigt, jedoch dass diese Befestigung in Nichts die Bacillenleiber verändert, in denen sie sich vollzieht. Wenn zugleich die agglutinirende Substanz eine genügende Menge von Salz findet, um den unlöslichen Niederschlag zu bilden, so bildet sich dieser unmittelbar. Daher muss sich das Salz in den Mikrobenzellen selbst befinden; wenn es sich in der umgebenden Flüssigkeit aufgelöst findet, so muss, bevor die Erscheinung auftritt, eine gewisse Quantität in die mikrobische Zelle eingedrungen sein.

Wenn gleiche Mengen von Mikroben in ungleich concentrirten Lösungen suspendirt sind, so ist es augenscheinlich, dass jene, welche sich in der stärkeren Lösung befinden, mehr NaCl absorbiren werden. Und diese Mikroben befinden sich in den besten Vorbedingungen zur Agglutination, denn die Verbindung kann sich augenblicklich herstellen, ohne zu warten bis NaCl aus der umgebenden Flüssigkeit entnommen wird. Bei dem eben erwähnten Versuche vollzieht sich die Agglutination zunächst in der Mischung, welche am wenigsten NaCl in der umgebenden Flüssigkeit aufgelöst enthält (was sich zeigt, wenn man die beiden Flüssigkeiten auf sehr reine Filtrirkerze filtrirt und das Filtrat mit NO_3Ag-Lösung zersetzt.

Hier wirft sich eine interessante Frage auf: Ist es nöthig, dass die Flüssigkeit, in welcher sich die Agglutination vollzieht, gelöste Salze enthalte?

Wir können darauf antworten, dass es nicht nöthig sei, dass in die Flüssigkeit, in der die Mikroben sich agglutiniren, Salze aufgelöst sind, wenn nur die Mikrobenzellen solche enthalten.

Versuch L. In eine dichte Emulsion von salzfreien Typhusbacillen fügen wir eine kleine Quantität NaCl hinzu und setzen alles während einiger Zeit der gewöhnlichen Temperatur oder zu 37° aus. Hierauf centrifugiren wir kräftig, um so einen Bacillenniederschlag zu erhalten, der NaCl gebunden hat. Sobald der Niederschlag vorhanden ist, giessen wir die oben schwimmende Flüssigkeit ab und trocknen die Tube sorg-



fältig mit Filtrirpapier, um so gut als möglich jede Spur der salzigen Flüssigkeit zu entfernen. Wir haben sodann am Grunde der Tube den Bacillenniederschlag, der noch von einer so geringfügigen Menge salziger Flüssigkeit imprägnirt ist, dass wir dieselbe unbeachtet lassen können.

Der Niederschlag wird rasch in mit destillirtem Wasser verdünnter Serumlösung (soviel zur Agglutinirung nöthig erscheint) aufgeschwemmt. Man sieht nun die charakteristischen Flocken sich rasch bilden, obgleich die Flüssigkeit, in der sie sich zeigen, nur eine ganz untergeordnete Spur von NaCl enthält, welche ungenügend ist, die Erscheinung von sich selbst hervorzubringen.

Dieser Versuch ist überzeugend und entscheidend; doch muss er gut vorgenommen werden und er erfordert gewisse Vorsichtsmaassregeln. Es ist nöthig, dass die wässerige, selbstredend vollkommen salzfreie Serumlösung concentrirt genug sei, um eine rasche Agglutination herbeizuführen. Wenn dieselbe zu langsam ist, so wird sich eine gewisse, in den Bacillenzellen enthaltene Quantität NaCl in der umgebenden Flüssigkeit verlieren und der Versuch wird offenbar weniger präcise sein, besonders wenn man danach die Flüssigkeit untersuchen will, welche durch Filtration von dem erlangten Niederschlage abgenommen wurde.

Schlüsse.

Aus den in dem ersten Theile dieser Arbeit erwähnten Versuchen lassen die nachstehenden Schlussfolgerungen ableiten:

1. Wenn man die agglutinirende Serumsubstanz bei gänzlicher Abwesenheit von Salz auf die agglutinirbare Substanz des Mikroben einwirken lässt, so vollzieht sich keine Agglutination.

2. Die Agglutination tritt immer auf, wenn drei Substanzen zusammentreten: die agglutinirende, die agglutinirbare Substanz und das Salz.

3. Bei Abwesenheit des Salzes wird die agglutinirende Substanz schnell durch die agglutinirbare Substanz des Mikroben gebunden. Diese Bindung alterirt die Vitalität der Bakterien in keiner Art.

4. Es besteht eine enge Wechselbeziehung zwischen den relativen Mengen der Substanzen, welche zur Hervorbringung des Phänomens der Agglutination zusammenwirken, und der erhaltenen Menge agglutinirter Substanz.



5. Das Salz spielt bei der Erscheinung der Agglutination eine active Rolle.

6. Dasselbe tritt in die Verbindung der agglutinirenden und agglutinirbare Substanz ein.

7. Die Agglutination kann auch in einer salzfreien Lösung eintreten, vorausgesetzt, dass die Bakterienzellen solches enthalten.

8. Die „Theorie Physique“ von Bordet wird also durch unsere Experimente als irrig erwiesen.

Brüssel, Januar 1901.



[Aus dem pathologischen Institut zu Dresden.]

Beitrag zur Lehre der Allgemeininfection des Organismus mit Typhusbacillen.

Von

Dr. **W. Weichardt,**
Assistenten am Institut.

Die Allgemeininfection des Organismus mit Typhusbacillen ist in Folge zahlreicher bakteriologischer Untersuchungen in den letzten Jahren mehr und mehr in den Vordergrund gerückt worden. So sei z. B. an die praktisch und theoretisch in gleicher Weise wichtigen und interessanten Untersuchungen über typhöse Eiterungen erinnert (1), bei denen überaus zahlreiche Untersucher einzig und allein Typhusbacillen als ätiologisches Moment feststellen konnten. — Es wurden ferner sogar Fälle beschrieben, in denen die typische Localisation des typhösen Processes im Darm vollständig fehlte, während Culturverfahren und Schnittpräparate zeigten, dass es sich um eine Localisation von Typhuserregern in allen Organen handelte.

Nach der Zusammenstellung von Chiari und Kraus (2) ist es fünf Autoren gelungen, ein derartiges ungewöhnliches Verhalten festzustellen:

Karlinski (3) konnte Typhusbacillen aus dem Herzblute, aus dem Blute der Vena lienalis, der A. portae, der Vena jugularis, der A. renalis und aus der Milz in Reincultur gewinnen. Im Darm fanden sich nur 4 pigmentirte strahlige Narben am Coecum.

Banti (4) beschrieb einen Fall, der klinisch als typischer Typhus abdominalis imponirte. Tod am Ende der dritten Krankheitswoche. Die einzige Darmveränderung war ein geschwürig zerfallener Solitärfollikel im untersten Ileum. Milz und Mesenterialdrüsen nicht vergrössert. Typhus-



bacillen wurden aus dem Herzblute, der Leber, den Nieren, den Mesenterialdrüsen und aus der Milz gezüchtet.

Bei den Fällen dieser beiden Autoren findet sich eine, wenn auch geringe, so doch sicher auf Typhus abdominalis zu beziehende Darmaffection. Bei den von Du Cazal (5) beschriebenen Falle war der Darm vollständig intact, die Mesenterialdrüsen nicht vergrössert. Aus der vergrösserten Milz wurden Typhusbacillen gezüchtet. Klinisch glich das Krankheitsbild dem einer Sepsis; der Exitus erfolgte durch hinzutretende bilaterale Pneumonie.

Auch bei einem von Meunier (6) veröffentlichten Falle fand sich bei der Section wohl eine Miliartuberculose, doch bestanden keine für Typhus abdominalis charakteristische anatomische Veränderungen. Es handelt sich hier um einen 8 jährigen Knaben, bei dem klinisch neben den Zeichen einer frischen Lungentuberculose auch alle Symptome eines typischen Typhus abdominalis ausgesprochen waren. Die bakteriologische Untersuchung ergab in der Milz, in der Pleuraflüssigkeit und in der Lunge Typhusbacillen, allerdings auch Tuberkelbacillen.

Einen bakteriologisch sehr genau untersuchten Fall beschreibt Kühnau (7):

Eine 33 jährige Frau bot klinisch das Bild der Septicopyämie. Die Diagnose Typhus abdominalis wurde gestellt, als sich Roseolen zeigten, die Leukocytenzahl vermindert gefunden und Typhusbacillen im Blute nachgewiesen wurden. In der achten Woche erfolgte der Exitus. Die Milz zeigte sich mässig vergrössert; im Darme keine Veränderungen. Ferner fanden sich eiterige Abscesse in den Mesenterialdrüsen und den Nieren, eiterige Entzündung der Gallenblase, eiterige Thrombose der Vena spermatica interna. Aus der Milz und sämmtlichen Eiterherden wurden Typhusbacillen gezüchtet.

Von Januar bis Mai 1897 untersuchten Chiari und Kraus (2) 19 Fälle von klinisch diagnosticirtem Typhus abdominalis, besonders auf das Vorhandensein von Typhusbacillen in verschiedenen Organen. Sie theilen die untersuchten Fälle in drei Gruppen ein. In der ersten Gruppe, die aus 9 Typhen besteht, bot sich bei der Section das für Typhus abdominalis typische pathologisch-anatomische Bild. Bakteriologisch konnten Typhusbacillen fast ausnahmslos in den Mesenterialdrüsen, der Milz und der Gallenblase nachgewiesen werden.

Der gleiche bakteriologische Befund wurde bei einer zweiten Gruppe von 3 weiteren Fällen erhoben, die zwar pathologisch-anatomisch noch als Typhus abdominalis zu diagnosticiren waren, aber doch schon erhebliche Abweichungen von dem gewöhnlichen Befunde aufwiesen. So bestand nur



eine Schwellung der Follikel im Darm; theilweise war diese sogar recht gering. Ein Milztumor war nur wenig, in dem einen Falle gar nicht ausgebildet. Die Mesenterialdrüsen fanden sich in diesen drei Fällen stark vergrössert, theils markig infiltrirt, theils weich, zerfliessend.

In der dritten Gruppe, die aus 5 Fällen besteht, fehlte bei makroskopischer Betrachtung jeder Anhaltspunkt für eine Typhusinfection. Da sich aber in vielen Organen Bacillen, die Chiari für Typhusbacillen anspricht, fanden, wurde auf Grund bakteriologischer Befunde eine Typhusinfection als erwiesen erachtet. In einem Falle fand sich pathologisch-anatomisch kein Anhaltspunkt für eine Typhusinfection, auch konnten Typhusbacillen aus den Organen weder in Reincultur gewonnen, noch in Schnitten nachgewiesen werden. Die Serumprobe jedoch in einer Verdünnung von 1:10 war positiv.

Durch die neueren Arbeiten von Stern (9), Biberstein (10), Jatta (11) und Sternberg (12) sind jedoch die Anforderungen, denen eine exacte bakteriologische Typhusdiagnose zu genügen hat, ganz wesentlich gesteigert worden. Es wurden Colistämme beschrieben mit Eigenschaften, die früher als dem Typhusbacillus allein zukommend angesehen wurden. Auch die Agglutination eines verdächtigen Bacillus durch Typhusimmunserum kann als ganz sicheres differential-diagnostisches Kriterium manchen Colistämmen gegenüber nur noch bei Verwendung eines sehr stark agglutinirenden Serums angesehen werden.

Nun lassen sich aber nach den Untersuchungen von Birch-Hirschfeld (8) schon oft nach 2 Stunden in den Organen von Leichen die verschiedensten Colistämme nachweisen. Der bakteriologisch vollgültige Beweis also, dass es sich in den 5 Fällen der dritten von Chiari aufgestellten Gruppe wirklich um eine Allgemeininfection mit Typhusbacillen gehandelt habe, dürfte nach heutigen Anschauungen kaum als erbracht anzusehen sein.

Ebenso können die von Karlinski, Bonti, Du Cazal und Meunier beschriebenen Typhussepticämien der heutigen Kritik nicht mehr Stand halten. Die Zahl der einwandsfrei beobachteten Fälle einer Allgemeininfection des Organismus mit Typhusbacillen bei fehlender Darmaffection ist also immerhin eine geringe. Es schien deshalb nicht unangebracht, folgenden Fall den wenigen bisher beobachteten anzureihen.

Die klinischen Daten, die uns von Hrn. Hofrath Dr. Oehme in Dresden in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurden, sind kurz folgende:



Th., 17 Jahre alt, sehr kräftiger Jüngling. In den Kinderjahren oft an Otorrhoe erkrankt. Dieselbe war seit mehreren Jahren völlig ausgeheilt, mit geringer Schwächung des Hörvermögens. Im Jahre 1899 überstand er einen sehr schweren, vom Mai bis August dauernden Rheumatismus acutus mit Diaphragmatitis, rechtseitiger Pleuritis und sehr schwerer Endocarditis. Seit Ende August 1899 völlig gesund, 30 Pfund an Gewicht zugenommen. Nachdem sich Patient einige Tage etwas müde gefühlt, erkrankte er plötzlich am 14. II. 1900 Abends, nachdem er Mittags noch gut gegessen, unter den Erscheinungen eines heftigen Kopfschmerzes; derselbe hielt auch noch am anderen Tage an.

Am 15. II. Abends Temperatur 38·8, Puls 90, sehr starker Kopfschmerz. Der Patient macht den Eindruck eines Influenzakranken.

Ordination: Phenacetin.

16. II. Derselbe Zustand. Der Patient klagt immer über äusserst heftigen Kopfschmerz. Keine katarrhalische Erscheinung. Abends einmal Erbrechen. Temperatur 39·6, 39·2, 40·5, Puls 100.

17. II. Starker Kopfschmerz, Neigung zu Würgbewegungen, Stuhlverstopfung, Milz deutlich geschwollen, es wird Typhus angenommen (Anzeige laut Ortsgesetz beim Wohlfahrtsamt). Temperatur 39·3, 39·9.

18. II. Leichte Delirien, Zuckungen in dem rechten Arm, keine Nackenstarre. Die Milz bleibt mässig geschwollen, Temperatur: 39·0, 39·3, 40·0, Puls 96.

19. II. Morgens Ordination: Calomel 0·2, hierauf guter fester Stuhl; sehr starker Kopfschmerz, starke Delirien, grosse Unruhe, Jactationen. Die Typhusdiagnose wird wieder zweifelhaft. Temp. 39·6, 39·0, 39·4, Puls 100.

20. II. Bad und Einpackung. Urinretention (Harn mit Katheter entleert). Fester Stuhl. Bewusstsein ist sehr selten vorhanden. Der Patient macht entschieden nicht recht den Eindruck eines Typhuskranken. Temperatur Morgens 39·8, etwas später 39·2, dann 40·0, n. Bad 39·0, Abends 40·5, Puls 108.

21. II. Eisblase auf den Kopf, Einlauf; es wird Meningitis, vielleicht von der früheren linksseitigen Ohreiterung ausgehend, angenommen. Hochgradige Unruhe, kein Strabismus, keine Nackenstarre, Temperatur 38·6, Bad, darauf 38·0, 39·2, Bad, darauf 39·0, 38·9, Puls 120, 130.

22. II. Eisumschläge, hochgradige ca. 30 Minuten dauernde allgemeine Convulsionen, Temperatur 38·0, 38·7, 38·2, Puls 120, 112, 124.

23. II. 3 Blutegel links an den Proc. mastoid. Sehr starke Nachblutung. Nach der Blutentziehung etwas ruhiger. Patient lässt Harn theilweise unter sich. Temperatur 38·2, 39·2, 39·0, Puls 104, 120, 128.

24. II. Da vom Ohre gar keine Erscheinungen, wird als wahrscheinlich eine tuberculöse Meningitis vermuthet. Klonische und tonische Zuckungen der Extremitäten und Gesichtsmusculatur wiederholen sich mehrmals. Patient wirft sich in die Höhe, schreit laut auf, knirscht mit den Zähnen und ist nur von mehreren Personen im Bette zu halten. Stuhlverstopfung. Einmal collapsähnlicher Zustand. Starke Schweisse, Temperatur 38.2, 38·7, Puls 144, 130, 140.

25. II. Morph. mur.: 0·003, 2 Mal. Hierauf Zustand etwas ruhiger. Bei starkem Anrufen kommt Patient zuweilen zu Bewusstsein, Gesicht und Gehör gut. Temperatur 37·0, 38·8, Puls 150, 130, 134.

26. II. Starke Würgebewegungen, grosse Schwäche, mehrmals wieder geringe Convulsionen, Temperatur 38·8, 38·5; Puls 130, 120.

27. II. Etwas Nackenstarre, Delirien, die Schwäche nimmt zu. Temperatur 39·2, 39·2; Puls 130, 132.

28. II. Temperatur 39·5, 38·6, 38·9; Puls 124, 108, 120. Sonst ist der Zustand wie am vorhergehenden Tage.

1. III. Sensorium etwas freier, Puls schwach. Keine Lähmungserscheinungen. Temperatur 38·5, 38·4. Puls 120, 112.

2. III. Exitus unter den Erscheinungen der Herzlähmung. Temperatur 39·2, Puls 120.

Ueberblickt man den eigenthümlichen klinischen Verlauf dieses Falles, so ist vor Allem das Ueberwiegen der Erscheinungen Seitens des Centralnervensystems, das Zurücktreten, ja nahezu vollkommene Fehlen aller für Typhus abdominalis im Allgemeinen für pathognomisch wichtig gehaltenen Störungen unverkennbar. Mit Recht wurde daher die Anfangs gestellte Diagnose aufgegeben und der Fall als Miningitis weiter behandelt.

Die am 3. März von Hrn. Medicinalrath Dr. Schmorl vorgenommene Section bot folgendes Bild:

Grosse, kräftig gebaute, leidlich genährte männliche Leiche. Hautfarbe blass. Das Gesicht zeigt etwas Cyanose. Der Unterleib eingesunken. Die Musculatur ist im Allgemeinen tief dunkelroth gefärbt, trocken, nur die Musculi pyramidales und die unteren Abschnitte des Musculus rectus aldominis zeigen wachsartige Degeneration. Die weichen Bedeckungen sind blutreich. Das knöcherne Schädeldach mässig dick. Die Tab. ext. glatt, die Tab. vitrea mit der Dura mässig fest verwachsen. Die Innenfläche der dura mater glatt, glänzend. Die weicheu Hirnhäute an der Convexität sind im Bereiche des Stirnhirnes leicht verdickt, milchig getrübt, in den hinteren Abschnitten sehr blutreich. In den subarachnoidealen Räumen mässig reichlich klare, seröse Flüssigkeit. An den vorderen Abschnitten des Gehirnes bemerkt man ausserdem noch gelblichgraue Herde, welche aber nicht über die Oberfläche prominiren und stellenweise von stark gefüllten, kleinen Gefässen durchzogen werden. An der Basis des Gehirnes sind die weichen Hirnhäute dagegen zart, ziemlich stark injicirt. Die grösseren Gefässstämme glatt und zart, zeigen nirgends Verdickungen. In der Fossa sylvii sind die weichen Häute beiderseits stärker injicirt als sonst. Auch hier bemerkt man in den subarachnoidealen Räumen seröse Flüssigkeit. Hirnsubstanz feucht, glänzend. Die Rinde etwas stärker vorquellend. Das Ependym der Ventrikel ist zart. Die Centralganglien deutlich gezeichnet, blutreich, in der Brücke und zwar im hinteren Drittel derselben bemerkt man in der Umgebung des Aquaeductus vereinzelte punktförmige Blutungen. Die Sinus an der Basis sind mit flüssigem Blute gefüllt, nirgends Thromben. Beide Pleurahöhlen sind obliterirt. Die Lungen sinken wenig zurück, die vorliegenden Lungentheile blass. Beide Blätter des Herzbeutels mit einander fest verwachsen. Das Herz von gewöhnlicher Grösse. Die Musculatur zeigt eine gelbbräunliche Farbe, ist sehr weich und mürbe, hier und da finden sich kleine Schwielen. Beide Ventrikel nicht erweitert. Die Mitralklappen sind



an ihrem hinteren Rande etwas verdickt, desgleichen ihre Sehnenfäden; an ihrem Ansatzpunkte an den Klappen des vorderen Klappenzipfels vereinzelte, kaum hanfkorngrosse, frische Excrescenzen. Die übrigen Klappen intakt, an der Aorta keine Veränderungen.

Coronargefässe intakt. Beide Lungen sind normal lufthaltig. Die Pleura durch die erwähnten alten Verwachsungen etwas verdickt. Die Bronchialschleimhaut in den Unterlappen geschwollen, geröthet, und mit eiterigem Schleime besetzt. Bronchialdrüsen intakt. Die Milz etwas vergrössert, von nicht besonders weicher Consistenz. Die Kapsel etwas gespannt. Auf der Schnittfläche quillt das Milzgewebe ziemlich stark hervor, ist blutreich, eine stärkere Trübung ist nicht zu erkennen. Nebennieren intakt. Nieren von gewöhnlicher Grösse, guter Consistenz. Oberfläche glatt, braunroth gefärbt, Schnittfläche blutreich, etwas getrübt. In der Gallenblase findet sich dünnflüssige, goldgelbe Masse (Galle). Die Magenschleimhaut geröthet, geschwollen, mit zähem Schleime belegt. Im oberen Theile des Dünndarmes ist die Schleimhaut nur etwas geschwollen, im unteren Theile besteht stärkere Schwellung und Röthung. Etwa 5 ccm oberhalb der Klappe ist ein Peyer'scher Plaque geschwollen, etwa 1 mm dick, an der Oberfläche etwas geröthet. In der Umgebung sind vereinzelte Solitärfollikel mässig geschwollen. Die Mesenterialdrüsen sind etwas geschwollen, ziemlich weich, auf der Schnittfläche röthlichweiss gefärbt, vorquellend. Genitalien ohne Besonderheiten.

Fassen wir den Sectionsbericht zusammen, so ergiebt sich, dass genau wie in den Fällen der dritten Chiari'schen Gruppe der makroskopisch-pathologische Befund einen bestimmten Anhaltspunkt für die Diagnose Typhus nicht ergab. Die wachsartig degenerirten Musculi recti, die mässig geschwollenen Mesenterialdrüsen, ein geschwollener und gerötheter Payer'scher Plaque und etwas geschwollene Solitärfollikel in der Umgebung und die nicht besonders grosse Infectionsmilz, das sind die einzigen Symptome, die auf Typhus abdominalis hindeuten könnten. Eher passt wohl die Bezeichnung einer Allgemeininfection für das makroskopisch-pathologische Bild.

In Anbetracht der schweren klinischen Erscheinungen von Seiten des Centralnervensystems wurden vor Allem die Meningen und die Gehirnsubstanz einer eingehenden histologischen und bakteriologischen Untersuchung unterworfen, ebenso Leber, Gallenblase, Mesenterialdrüsen und Milz histologisch und bakteriologisch genau untersucht. Zunächst wurden mit aus oben genannten Organen unter aseptischen Cautelen entnommenem Materiale je 4 Gelatine- und Agarplatten in den üblichen Verdünnungen gegossen.

In fast allen der massenhaft entwickelten Colonieen waren Kurzstäbchen gewachsen, welche, wie weiter unten ausgeführt, alle für Bacillus typhi abdominalis typischen Eigenschaften besassen. In mit Methylenblau gefärbten Schnittpräparaten aus der Milz, der Leber und den Mesenterialdrüsen,



26. II. Starke Würgebewegungen, grosse Schwäche, mehrmals wieder geringe Convulsionen, Temperatur 38·8, 38·5; Puls 130, 120.

27. II. Etwas Nackenstarre, Delirien, die Schwäche nimmt zu. Temperatur 39·2, 39·2; Puls 130, 132.

28. II. Temperatur 39·5, 38·6, 38·9; Puls 124, 108, 120. Sonst ist der Zustand wie am vorhergehenden Tage.

1. III. Sensorium etwas freier, Puls schwach. Keine Lähmungserscheinungen. Temperatur 38·5, 38·4. Puls 120, 112.

2. III. Exitus unter den Erscheinungen der Herzlähmung. Temperatur 39·2, Puls 120.

Ueberblickt man den eigenthümlichen klinischen Verlauf dieses Falles, so ist vor Allem das Ueberwiegen der Erscheinungen Seitens des Centralnervensystems, das Zurücktreten, ja nahezu vollkommene Fehlen aller für Typhus abdominalis im Allgemeinen für pathognomisch wichtig gehaltenen Störungen unverkennbar. Mit Recht wurde daher die Anfangs gestellte Diagnose aufgegeben und der Fall als Miningitis weiter behandelt.

Die am 3. März von Hrn. Medicinalrath Dr. Schmorl vorgenommene Section bot folgendes Bild:

Grosse, kräftig gebaute, leidlich genährte männliche Leiche. Hautfarbe blass. Das Gesicht zeigt etwas Cyanose. Der Unterleib eingesunken. Die Musculatur ist im Allgemeinen tief dunkelroth gefärbt, trocken, nur die Musculi pyramidales und die unteren Abschnitte des Musculus rectus aldominis zeigen wachsartige Degeneration. Die weichen Bedeckungen sind blutreich. Das knöcherne Schädeldach mässig dick. Die Tab. ext. glatt, die Tab. vitrea mit der Dura mässig fest verwachsen. Die Innenfläche der dura mater glatt, glänzend. Die weicheu Hirnhäute an der Convexität sind im Bereiche des Stirnhirnes leicht verdickt, milchig getrübt, in den hinteren Abschnitten sehr blutreich. In den subarachnoidealen Räumen mässig reichlich klare, seröse Flüssigkeit. An den vorderen Abschnitten des Gehirnes bemerkt man ausserdem noch gelblichgraue Herde, welche aber nicht über die Oberfläche prominiren und stellenweise von stark gefüllten, kleinen Gefässen durchzogen werden. An der Basis des Gehirnes sind die weichen Hirnhäute dagegen zart, ziemlich stark injicirt. Die grösseren Gefässstämme glatt und zart, zeigen nirgends Verdickungen. In der Fossa sylvii sind die weichen Häute beiderseits stärker injicirt als sonst. Auch hier bemerkt man in den subarachnoidealen Räumen seröse Flüssigkeit. Hirnsubstanz feucht, glänzend. Die Rinde etwas stärker vorquellend. Das Ependym der Ventrikel ist zart. Die Centralganglien deutlich gezeichnet, blutreich, in der Brücke und zwar im hinteren Drittel derselben bemerkt man in der Umgebung des Aquaeductus vereinzelte punktförmige Blutungen. Die Sinus an der Basis sind mit flüssigem Blute gefüllt, nirgends Thromben. Beide Pleurahöhlen sind obliterirt. Die Lungen sinken wenig zurück, die vorliegenden Lungentheile blass. Beide Blätter des Herzbeutels mit einander fest verwachsen. Das Herz von gewöhnlicher Grösse. Die Musculatur zeigt eine gelbbräunliche Farbe, ist sehr weich und mürbe, hier und da finden sich kleine Schwielen. Beide Ventrikel nicht erweitert. Die Mitralklappen sind



an ihrem hinteren Rande etwas verdickt, desgleichen ihre Sehnenfäden; an ihrem Ansatzpunkte an den Klappen des vorderen Klappenzipfels vereinzelte, kaum hanfkorngrosse, frische Excrescenzen. Die übrigen Klappen intakt, an der Aorta keine Veränderungen.

Coronargefässe intakt. Beide Lungen sind normal lufthaltig. Die Pleura durch die erwähnten alten Verwachsungen etwas verdickt. Die Bronchialschleimhaut in den Unterlappen geschwollen, geröthet, und mit eiterigem Schleime besetzt. Bronchialdrüsen intakt. Die Milz etwas vergrössert, von nicht besonders weicher Consistenz. Die Kapsel etwas gespannt. Auf der Schnittfläche quillt das Milzgewebe ziemlich stark hervor, ist blutreich, eine stärkere Trübung ist nicht zu erkennen. Nebennieren intakt. Nieren von gewöhnlicher Grösse, guter Consistenz. Oberfläche glatt, braunroth gefärbt, Schnittfläche blutreich, etwas getrübt. In der Gallenblase findet sich dünnflüssige, goldgelbe Masse (Galle). Die Magenschleimhaut geröthet, geschwollen, mit zähem Schleime belegt. Im oberen Theile des Dünndarmes ist die Schleimhaut nur etwas geschwollen, im unteren Theile besteht stärkere Schwellung und Röthung. Etwa 5 ^{ccm} oberhalb der Klappe ist ein Peyer'scher Plaque geschwollen, etwa 1 ^{mm} dick, an der Oberfläche etwas geröthet. In der Umgebung sind vereinzelte Solitärfollikel mässig geschwollen. Die Mesenterialdrüsen sind etwas geschwollen, ziemlich weich, auf der Schnittfläche röthlichweiss gefärbt, vorquellend. Genitalien ohne Besonderheiten.

Fassen wir den Sectionsbericht zusammen, so ergiebt sich, dass genau wie in den Fällen der dritten Chiari'schen Gruppe der makroskopisch-pathologische Befund einen bestimmten Anhaltspunkt für die Diagnose Typhus nicht ergab. Die wachsartig degenerirten Musculi recti, die mässig geschwollenen Mesenterialdrüsen, ein geschwollener und gerötheter Payer'scher Plaque und etwas geschwollene Solitärfollikel in der Umgebung und die nicht besonders grosse Infectionsmilz, das sind die einzigen Symptome, die auf Typhus abdominalis hindeuten könnten. Eher passt wohl die Bezeichnung einer Allgemeininfection für das makroskopisch-pathologische Bild.

In Anbetracht der schweren klinischen Erscheinungen von Seiten des Centralnervensystems wurden vor Allem die Meningen und die Gehirnsubstanz einer eingehenden histologischen und bakteriologischen Untersuchung unterworfen, ebenso Leber, Gallenblase, Mesenterialdrüsen und Milz histologisch und bakteriologisch genau untersucht. Zunächst wurden mit aus oben genannten Organen unter aseptischen Cautelen entnommenem Materiale je 4 Gelatine- und Agarplatten in den üblichen Verdünnungen gegossen.

In fast allen der massenhaft entwickelten Colonieen waren Kurzstäbchen gewachsen, welche, wie weiter unten ausgeführt, alle für Bacillus typhi abdominalis typischen Eigenschaften besassen. In mit Methylenblau gefärbten Schnittpräparaten aus der Milz, der Leber und den Mesenterialdrüsen,



liessen sich nekrotische Herde nachweisen, in denen sich massenhaft dicht gedrängte Convolute von kurzen Bacillen fanden, welche die für Typhusbacillen charakteristische Lagerung in kleinen Häufchen darboten, wie das schon Eberth (13) in seiner ersten Veröffentlichung über den Typhusbacillus beschrieben hat. In den Meningen und in der Gehirnsubstanz waren trotz allen Suchens keine Bacillen in den Schnitten nachweisbar. es fand sich jedoch hier und da eine deutliche herdförmige, fleckweise Rundzelleninfiltration an der Grenze zwischen Mark und Rinde und in der Nachbarschaft von Gefässen, sowie kleine Blutungen in der Rinde. Im Herzen waren ebenfalls keine Bacillenhaufen nachweisbar, es bestand aber eine schwere parenchymatöse Degeneration und eine geringe interstitielle Myocarditis.

In den Meningen, der Gehirnsubstanz und dem Herzen hatten die einzelnen Bacillen offenbar noch nicht genügend Zeit gehabt, sich zu Häufchen zu entwickeln.

Im Hinblick auf die histologischen Veränderungen und Blutungen. ferner besonders im Hinblick auf den positiven Ausfall des Culturverfahrens ist es ganz unzweifelhaft, dass auch hier Typhusbacillen vorhanden waren. Wenn sie sich in Schnittpräparaten nicht nachweisen liessen, so liegt der Grund wohl darin, dass sie hier nur vereinzelt lagen, und dass, zumal eine specifische Färbmethode für Typhusbacillen nicht existirt, die einzelnen Bacillen wohl auch der Untersuchung entgehen konnten, vielleicht auch in dem gerade untersuchten Schnitte nicht vorhanden waren.

Was nun die exakte bakteriologische Bestimmung der typhusverdächtigen Stämme aus den Organen der Leiche des Th. anbetraf, so glaubten wir, nach den oben erwähnten Arbeiten von Birch-Hirschfeld, Stern, Biberstein und Jatta, erst dann berechtigt zu sein, eine sichere Diagnose zu stellen, wenn diese Stämme alle dem Typhusbacillus zukommenden Merkmale in ihrer Gesammtheit darboten:

Es handelte sich um kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Ecken.

Sie zeigten lebhafte Beweglichkeit im hängenden Tropfen. Nach Gram wurden sie entfärbt.

Bei geeigneter Färbung konnten etwa 10 rings um den Körper angeordnete Geisseln wahrgenommen werden.

Die Colonieen auf Gelatine an der Oberfläche waren weinblattförmig. von ganz zarten Furchen durchzogen, dabei durchsichtig und deutlich irisirend.

Auf der gleichen Kartoffel zeigten sich die Colonieen eines Bac. coli communis unserer Sammlung und die des betreffenden isolirten Bacillus in je einem Impfstriche, erstere als gelbbrauner Belag, letztere waren fast



unsichtbar und boten bei der Berührung mit der Platinnadel eine gewisse Resistenz.

In Zuckeragar wurde von dem isolirten Bacillus kein Gas gebildet.

Die Nitrit- sowie die Indolbildung fehlte, die Bouillon wurden nur leicht getrübt.

Sterile Milch, mit Reinculturen der fraglichen Bacillen beimpft, wurde durch ihr Wachsthum nicht coagulirt.

Petruschky'sche Lackmusmolke blieb klar, und es war nach 2 Mal 24 Stunden niemals über 5 Volumenprocent Normalsäure producirt worden; ein Colistamm unserer Sammlung producirte in der gleichen Zeit ungefähr die doppelten Säuremenge.

In Formolbouillon 1:700 zeigte sich kein Wachsthum (Probe nach Schild). Glycerinagar mit Neutralroth bezw. Saffranin versetzt und nach den Angaben von Rothberger (14) und Scheffler (15) mit den fraglichen Culturen beimpft, blieb bis zum 5. Tage ohne jede Veränderung, während sich mit Coliculturen Fluorescens bezw. Entfärbung zeigte.

Serum von einem zweifellos Typhuskranken, das auch anderen, schon sicher identificirten Typhusstämmen gegenüber hohe Agglutionswerthe aufwies, agglutinirte den isolirten Bacillus noch deutlich in einer Verdünnung von 1:900.

Da indess jetzt die Serumprobe mit dem Blute von Typhuskranken nach den Arbeiten der oben genannten Autoren als ausschlaggebendes Kriterium für die sichere Diagnose des Typhusbacillus nicht mehr angesehen werden kann, und da überdies auch das Serum des eben erwähnten Kranken thatsächlich einen relativ nicht unbeträchtlichen Agglutinationswerth auch Colistämmen unserer Sammlung gegenüber aufwies, so wurde folgende Versuchsreihe angestellt:

Zwei grossen Kaninchen wurde an jedem dritten Tage die Bouillonaufschwemmung einer achtstündigen Agarcultur eines sicheren Typhusstammes unserer Sammlung injicirt. Die Aufschwemmung war vorher jedes Mal eine Stunde lang bei 50° gehalten worden. Die Thiere vertrugen die Injection im Allgemeinen gut, magerten jedoch im Verlaufe der nächsten Wochen sichtlich ab. Im Beginne des Versuches zeigte das Serum beider Kaninchen Typhusbacillen sowohl, wie Bacterium coli gegenüber, selbst bei einer Verdünnung von 1:50, nur inconstant und undeutlich das Phänomen der Agglutination. Nachdem beide Thiere 2 Wochen lang in der oben angegebenen Weise injicirt worden waren, wurde die Agglutinationskraft des von ihnen gewonnenen Serums den verschiedensten Colistämmen gegenüber nur ganz wenig erhöht gefunden: 1:100 gab niemals mehr auch nur die geringste Agglutination. Culturen des zur



Immunisirung der Thiere benutzten Typhusstammes[1] dagegen wurden von dem Serum des einen Kaninchens noch im Verhältniss von 1:800 nach $^1/_2$ stündigem Verweilen im Brutschranke ganz scharf und deutlich agglutinirt, mit dem Serum des anderen Kaninchens war die obere Grenze des Agglutinationswerthes diesem Stamme gegenüber bei 1:6000 noch nicht erreicht. Mit demselben Serum beider Kaninchen war jetzt unter denselben Bedingungen, in der gleichen Verdünnung, das Phänomen der Agglutination zu beobachten, sowohl bei den anderen Typhusstämmen unserer Sammlung, wie bei den aus der Gehirnsubstanz, den Meningen, dem Herzen, der Leber, der Gallenblase, der Milz und den Mesenterialdrüsen gezüchteten Bacillen. Da die von uns in dem in Rede stehenden Falle gezüchteten Bakterien alle dem Typhusbacillus zukommenden Kriterien besitzen, so dürfte ein Zweifel an ihrer Identität mit den Erregern des Typhus abdominalis nicht mehr bestehen. Dieselben hatten also eine Erkrankung erzeugt, die grosse Aehnlichkeit mit der von Chantemesse und Widal (16) bei Thieren hervorgerufenen Typhusinfection hat.

Jedenfalls muss beim Verlaufe eines Falles, der Aehnlichkeit bietet mit unserem, von Hofrath Dr. Oehme beschriebenen, der Verdacht auf eine Allgemeininfektion des Organismus mit Typhusbacillen rege werden. Einen solchen Typhus aber nicht zu übersehen und dabei die zur Verhütung seiner Weiterverbreitung wichtigen Maassregeln nicht zu unterlassen, scheint mir besonders vom hygienischen Standpunkte sehr wichtig. Sind doch Fälle wie der beschriebene sicherlich überaus geeignet zur leichten und raschen Verbreitung der Krankheit. Denn da, wie wir gesehen haben, die typischen Symptome des Typhus abdominalis fast sämmtlich fehlen, so wird der Kranke nur in seltenen Fällen auch nur für typhusverdächtig gehalten werden. Ja sogar pathologisch-anatomisch wird nur durch ausgedehnte bakteriologische und histologische Untersuchungen das ätiologische Moment der Krankheit aufzufinden sein. Nun ist aber mit Sicherheit anzunehmen, dass in allen Excreten solcher Kranker massenhaft Typhusbacillen sich vorfinden und demgemäss auch verschleppt werden können. So ist das Vorkommen von Typhusbacillen im Urin ja schon bei Typhen mit normalem Verlaufe von Petruschky, Neumann, Faulhaber, Curschmann (17) u. A. festgestellt worden. In unserem Falle kann aus dem, wie wir oben sahen, reichlichen Vorkommen von Typhusbacillen in der Galle mit Sicherheit auch auf ein solches in den Fäces geschlossen werden.

[1] Zur Agglutination wurden in allen Versuchen 6stündige Agarculturen verwendet, die mit 5 ccm Bouillon aufgeschwemmt waren.

Der Kliniker würde in einem Falle der von uns beschriebenen Art zwei Untersuchungsmethoden nicht entbehren können, die Widal'sche Serumprobe und den Nachweis von Typhusbacillen im kreisenden Blute der Kranken. Letzterer ist ja schon bei Typhen mit dem gewohnten Verlaufe verschiedenen Autoren relativ leicht gelungen. Fast stets konnten Typhusbacillen im kreisenden Blute der Kranken Schottmüller (18) und Castellani (19) nachweisen, auch Auerbach und Unger (20) ist dies in der Mehrzahl ihrer Fälle geglückt. Man darf nun wohl mit Recht annehmen, dass dieser Nachweis noch viel leichter gelingen wird bei Fällen, in denen gerade die Allgemeininfection des Organismus mit Typhusbacillen eine so starke ist, dass sie allein schon den Exitus verursacht.

Der oben beschriebene, klinisch, pathologisch-anatomisch und bakteriologisch eingehend untersuchte Fall gehört also zu der dritten Gruppe der Chiari'schen Eintheilung, nämlich zu denen, „die anatomisch nicht als Typhus abdominalis zu diagnosticiren sind, in denen aber durch bakteriologische Untersuchungen die Gegenwart einer Allgemeininfection durch Typhusbacillen festgestellt werden kann."

Hrn. Medicinalrath Schmorl bin ich für das liebenswürdige Ueberlassen des gesammten Materials sowie für seine freundliche Unterstützung bei obiger Beschreibung zu grossem Danke verpflichtet.



Litteratur-Verzeichniss.

1. Flügge, *Mikroorganismen.* 1896. II. S. 390.

2. Chiari und Kraus, *Zeitschrift für Heilkunde.* 1897. Bd. XVIII.

3. Karlinski, Zur Kenntniss der atypischen Typhusfälle. *Wiener medicin. Wochenschrift.* 1891. Nr. 11812. Fall I.

4. Banti, Le setticemie tifiche e le infezioni pseudotifiche. *Riforma med.* 1894. p. 674.

5. Du Cazal, Fièvre typhoide sans dothiénentérie, pneumonie, double mort. *Bullet. et mém. de la soc. med. des hôpitaux de Paris.* 1893. p. 243.

6. Meunier, Du serodiagnostic dans un cas de tuberculose aigue et de fièvre typhoide associées. *Bullet. et mem. de la soc. med. des hôpitaux de Paris.* 1897. Séance de 7. avril.

7. Kühnau, Ein Fall von Septicämie typhosa. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1896. Nr. 30.

8. Birch-Hirschfeld, *Inaug.-Dissertation.* Leipzig 1896.

9. Stern, Typhusserum und Colibacillen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1898. Bd. XXIII.

10. Biberstein, *Diese Zeitschrift.* Bd. XXVII.

11. Jatta, *Ebenda.* 1900. Bd. XXXIII.

12. Sternberg, *Ebenda.* 1900. Bd. XXXIV.

13. Eberth, Virchow's *Archiv.* Bd. LXXXIII. S. 486.

14. Rothberger, *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXIV, S. 513 u. Bd. XXV, S. 15, 69.

15. Scheffler, *Ebenda.* Bd. XXVIII. Nr. 6/7.

16. Chantemesse und Widal, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1892. No. XI. p. 755.

17. Curschmann, *Münchener med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 47. Siehe dort auch Litteraturangabe.

18. Schottmüller, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 32.

19. Castellani, Ref. in *Presse médicale.* Juni 1900.

20. Auerbach und Unger, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. Nr. 49.



Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose.

Erwiderung.

Von

Apotheker Dr. **Richard Weil,**
Assistenten am staatl. hygien. Institut Hamburg.

In Bd. XXXV dieser Zeitschrift erschien aus dem hygienischen Laboratorium des königlich württembergischen Medicinalcollegiums eine Arbeit von Hrn. Oberarzt Dr. Klett, die, falls sie einer sachlichen Kritik stand zu halten vermag, eine völlige Reform unserer Anschauungen über Anaërobiose herbeiführen müsste. Auffallend ist allerdings die Thatsache, dass der eigene Text mit manchen in den Tabellen niedergelegten Daten im directen Widerspruch steht.

Es sei meine Aufgabe, zuerst den Text für sich, alsdann den Text in Beziehung zu den Tabellen eingehend zu untersuchen.

In einer Zusammenstellung der neueren Arbeiten bespricht Klett auch die meinige und beginnt: „Im letzten Jahre veröffentlichte Weil eine Arbeit über die Biologie des Milzbrandes und wies darin nach, dass bei der Sporenbildung jedenfalls nicht die Erschöpfung des Nährbodens von ausschlaggebendem Einfluss sein könne, da dieselbe Bouillon, die nach reichlicher Bildung von Milzbrandsporen mittels Filtration durch ein Chamberlandfilter keimfrei gemacht war, eine reichliche Entwickelung zeigte, wenn sie mit denselben Sporen von neuem inficirt und bei geeigneter Temperatur im Brutschrank gehalten wurde."

Ich[1] wies also nach, dass Sporen in demselben Nährmaterial auszukeimen vermögen, in dem sie vorher gebildet wurden.

Was hat denn die Auskeimung mit der Sporenbildung zu thun? Wie kommt Klett zu der unrichtigen Auffassung, ich hätte nachgewiesen, dass die Erschöpfung des Nährbodens bei der Sporenbildung jedenfalls nicht von ausschlaggebendem Einfluss sein könne?

Einer der Schlusssätze meiner Arbeit lautet: Der atmosphärische Sauerstoff übt keinen specifischen Einfluss auf das Zustandekommen der Dauerformen aus. Die Milzbrandbacillen bilden in geeigneten Nährmedien

[1] Weil, Zur Biologie des Milzbrandes. *Archiv für Hygiene.* Bd. XXXV.



auch unter anaërobiontischen Bedingungen Sporen von beinahe normaler Virulenz; als solche Nährmedien bezeichne ich:

1. sterile Kartoffelscheiben, 2. 10 Procent Weizenauszug,

3. je 5 Procent Quitten- und Eibischschleim,

4. festes Schafblutserum mit 25 Procent Traubenzuckerbouillon.

Darüber äussert sich Klett: „Allgemein gefasst würde sich also aus den Weil'schen Resultaten die Regel ableiten lassen, dass für das Zustandekommen der Sporenbildung nicht das aërobe Wachsthum, sondern die Art des Nährmaterials von ausschlaggebender Bedeutung ist."

Wenn ich an der Hand einwandsfreier Experimente nachgewiesen habe, dass bei strenger Anaërobiose auf gewissen Nährmedien Sporenbildung eintritt, so folgt daraus, dass die Milzbrandbacillen absolut nicht des Sauerstoffes als solchen zur Sporenbildung bedürfen, sondern dass andere Oxydationsmittel, die die Bacillen anscheinend in gewissen Nährmedien vorfinden, bei strenger Anaërobiose dasselbe zu bewirken im Stande sind, was bei aërobem Wachsthum der Sauerstoff leistet.

Ich wies also bei anaërobem Wachsthum auf die Bedeutung des Nährmateriales für die Sporenbildung hin.

Wie kommt dann Klett zu der abermals unrichtigen Auffassung, es liesse sich aus meinen Resultaten die Regel ableiten, nicht das aërobe Wachsthum, sondern die Art des Nährmateriales sei für die Sporenbildung von ausschlaggebender Bedeutung?

Nun zu den Versuchen Klett's selbst.

Klett will unter streng anaëroben Bedingungen arbeiten und verwendet als Anaërobenapparate Buchner'sche Röhren, in denen sich die mit sporenfreiem Milzbrandmaterial geimpften Nährmedien befanden. Als solche verwendet er Schrägagar, erstarrtes Blutserum; von flüssigen: Bouillon, Quittenschleim und ähnliche. Nach seinen Angaben ist es absolut nicht wesentlich, die Nährmedien stets vor dem Impfen auszukochen. Er bebrütete die in Buchner'schen Röhren befindlichen geimpften Nährmedien und fand nach 2 Tagen, dass sich „trotz des anaëroben Wachsthums" massenhaft Sporen gebildet hatten.

Als Kriterium dafür, dass die Milzbrandbacillen unter streng anaëroben Bedingungen im inneren Reagensgläschen gewachsen sind, sieht Klett das Erlöschen eines brennenden Spahnes an, wenn derselbe nach vorsichtigem Oeffnen der Buchner'schen Röhre und nach Herausnahme des geimpften Reagircylinders in die äussere Buchner'sche Röhre hineingetaucht wurde.

Auf Grund des positiven Ausfalles der Sporenbildung in allen Nährmedien unter dem Einfluss von pyrogallolsaurem Kali kommt Klett zu dem Schlusse, dass zum Zustandekommen der Sporenbildung nicht die An-



wesenheit von Sauerstoff erforderlich ist — das ist ja zufälliger Weise richtig —, dass dieselbe vielmehr auch unter sogenannten anaëroben Verhältnissen in einer Stickstoffatmosphäre regelmässig einzutreten pflegt.

Es waren allerdings nur sogenannte anaërobe Verhältnisse, die wir aber aërobe zu nennen gezwungen sind. Der Beweis für meine Behauptung soll gleich nachher erbracht werden.

Klett sagt wörtlich: Wie übrigens weiter unten (wo er die Luft durch den sehr leicht diffundirbaren Wasserstoff verdrängt) gezeigt wird, ist die geringe Menge von Sauerstoff, die z. B. in schon längere Zeit zubereiteten Agarröhrchen absorbirt ist, von sich aus keineswegs im Stande, unter anderen Bedingungen (in der Wasserstoffatmosphäre) eine Sporenbildung zu ermöglichen.

Wie kommt Klett zu einer Vorstellung über die Grösse des Luftvolumens, das durch den Wasserstoff verdrängt wurde?

Wer öfters Titrationen ausführt mit Phenolphtaleïn, das gegen Luft bezw. deren Kohlensäuregehalt empfindlich ist, kennt zur Genüge die erheblichen Differenzen, die sich ergeben, je nachdem man das betreffende Nährmedium durch Auskochen luftleer macht oder nicht. Wenn sich diese Angaben direct auch nur auf flüssige Nährmedien beziehen, so wird keinenfalls bestritten werden können, dass ein plastischer Körper, wie Agar, beim Erstarren mechanisch Luft einzuschliessen vermag, deren Menge zu unterschätzen wir keinen Grund haben. Man kann ja einwenden, diese Luftmenge könne nur minimal sein, da unsere exquisiten Anaërobier, wie Tetanus oder Rauschbrand, manchmal auch vortrefflich in nicht ausgekochten festen Nährmedien zu gedeihen vermögen.

Nachdem wir aber einerseits absolut keine Vorstellung darüber haben, welche directe Rolle dem Sauerstoff beim Zustandekommen bezw. Ausbleiben der Entwickelung in den Reinculturen unserer obligaten Anaërobier zukommt, nachdem andererseits Kedrowski[1] es für den Tetanusbacillus gezeigt hat, dass derselbe in einer Prodigiosuscultur trotz einer gesättigten Sauerstoffatmosphäre, hergestellt durch ununterbrochenes Einleiten von Sauerstoff, sich reichlich vermehrte, und dass hier der Sauerstoff nur das Zustandekommen eines Fermentes begünstigt, das dem Tetanusbacillus auch unter völlig aëroben Bedingungen das Gedeihen ermöglicht, nachdem ferner Kitt[2] in grossen lufthaltigen Bouillonmengen auch prächtige Rauschbrandculturen zu züchten vermochte, dürfen wir keinesfalls den positiven Ausfall des Wachsthumes eines strengen Anaërobiers als sicheres Kriterium dafür gelten lassen, dass das betreffende Nährmedium völlig sauerstofffrei war.

[1] Kedrowski, *Diese Zeitschrift.* Bd. XX. S. 358.

[2] Kitt, *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde.* Bd. XVII. S. 159.



Dieser mechanisch im Nährmedium eingeschlossene Sauerstoff bildet aber nur einen Bruchtheil der Sauerstoffmenge, die den Milzbrandbacillen in den Buchner'schen Röhren zur Verfügung stand.

Das Klett'sche Reagens, das Erlöschen des brennenden Spahnes, soll aber, wie Klett behauptet, ein Kriterium nicht nur dafür sein, dass in der Buchner'schen Röhre kein Sauerstoff mehr vorhanden war, sondern sogar als Beweis dafür gelten, dass die Milzbrandbacillen in der inneren Reagensröhre unter streng anaëroben Bedingungen gewachsen wären.

Die Thatsachen der Physik und Chemie machen Front gegen den Werth eines solchen Indikators.

Da einerseits die Luft mit einem Drucke von 10 333 kg auf einem Quadratmeter Fläche lastet, andererseits es eine physikalische Fundamentalwahrheit ist, dass verschiedene Gase, die keine chemische Wirkung auf einander ausüben, durch Diffusion sich gleichförmig durch den ganzen Raum vertheilen, so muss in die geöffnete Buchner'sche Röhre, während das Proberöhrchen entnommen wurde, Sauerstoff eingedrungen sein und beweist das Erlöschen des brennenden Spahnes nur, dass sich in der Buchner'schen Röhre keine 21 Procent Sauerstoff und mehr als 79 Procent Stickstoff befanden.

Eigene Versuche.

I. Colorimetrisch-chemischer Sauerstoffnachweis.

In 10 Buchner'sche Röhren gab ich je 1 grm Pyrogallol und 10 ccm ausgekochter 1 procent. KOH, ferner je ein Schrägagar- und je ein steriles Reagensröhrchen: letzteres war gefüllt mit reinem Pyrogallol. Die wohl verschlossenen Apparate verweilten zweimal 24 Stunden bei 37° C.

Fünf Röhren wurden dann nach einander geöffnet, in Nachahmung der Klett'schen Versuche das Agarröhrchen entfernt und in das Pyrogallolröhrchen mit der Pipette 1 ccm kochend heisser 10 proc. Kalilauge gegeben. Alsdann wurden die Buchner'schen Röhren, die im ganzen kaum 10 Sekunden geöffnet waren, wieder wohl verschlossen. Die Pyrogallollösung in den 5 Röhrchen war nach 4 Minuten noch gleichmässig hellgelb, nach 5 bis 10 Minuten entstand eine dünne schwarzbraune Zone am oberen Rande, die allmählich durch weitere Diffusion des Sauerstoffes nach unten fortschritt.

Die übrigen 5 Röhren wurden nun ebenfalls rasch geöffnet und ohne Entfernung des Agarröhrchens dem reinweissen Pyrogallol die ausgekochte Kalilauge zugesetzt, worauf mit dem Gummistopfen nach kaum 4 Secunden die Buchner'schen Röhren wieder sorgfältig verschlossen wurden. Nach 30 Minuten ist das pyrogallolsaure Kali noch rein hellgelb, ein sicherer Beweis dafür, dass mit der heissen Kalilauge keine Luft mit übertragen wurde. Nach 40 Minuten ist in allen Röhrchen eine schwarzbraune Zone zu beobachten, die von oben nach unten mit der fortschreitenden Diffusion des Sauerstoffes sich vergrössert. Nachdem so in allen Buchner'schen Röhren die Anwesenheit von Sauerstoff mit absoluter Sicherheit erwiesen,



brachte ich in das Innere der 10 Röhren einen brennenden Spahn. Er erlischt sofort und beginnt an der Luft wieder zu glimmen.

Physikalisch und colorimetrisch-chemisch wäre die Werthlosigkeit des Klett'schen Reagens bewiesen. Es sei nun aber auch meine Aufgabe, quantitativ festzustellen, welche Sauerstoffmengen den Milzbrandbacillen in den Buchner'schen Röhren zur Verfügung standen.

II. Gasanalytische Absorption und volumetrische Bestimmung des Sauerstoffes.

8 Buchner'sche Röhren, in denen sich je ein Gramm Pyrogallol, 10 ccm ausgekochter KOH und ein Schrägagarröhrchen befanden, waren mit Gummistopfen verschlossen, in die je 2 Glasröhren passten, die selbst mit Gummischläuchen und Quetschhähnen luftdicht abgeschlossen waren. Jede einzelne Röhre war auf's Sorgfältigste mit geschmolzenem Paraffin gedichtet. Dem Thermostaten von 37° wurden sie nach den unten angegebenen Zeiten entnommen und in je 2 der procentuale Sauerstoffgehalt ermittelt. Die Absorption[1] wurde bei 21° C. nach dem Vorgange Doyère's in besonderen Apparaten vorgenommen, durch Combination der Quecksilbergasbüretten mit den einfachen Gasabsorptionspipetten, in denen sich pyrogallolsaures Kali befand.

Der Sauerstoffgehalt betrug im Mittel:

Nach	2 stündigem	Verweilen	bei	37°	C.	17·5	Procent.
„	6 „	„	„	„	„	13·4	„
„	20½ „	„	„	„	„	4·6	„
„	26 „	„	„	„	„	0	„

In den Buchner'schen Röhren steht den Milzbrandbacillen mehr als 20 Stunden lang Sauerstoff zur Verfügung. Wie ich[2] gezeigt habe, tritt die Sporenbildung bei Gegenwart von Sauerstoff im Temperaturoptimum schon nach 16 Stunden ein. Ist da die Anwesenheit von Sporen zu verwundern, wenn den Bacillen länger als 20 Stunden Sauerstoff geboten war?

Nun möchte ich nur noch citiren, was Buchner[3] selbst über seine eigene Methode sagt: „Beträgt der Luftraum der äusseren Röhre 100 ccm, die Menge der Pyrogallussäure 1 grm, jene der Zehntelkalilauge 10 ccm, so ist im Brutkasten bei 37° die Sauerstoffabsorption nach 24 Stunden vollendet. Für rein theoretische Versuche, bei denen von vorn herein jede Spur von Sauerstoff auszuschliessen ist, muss ohnehin eine der bisher bekannten Methoden verwendet werden."

Und last not least behauptet Klett, dass die Sporenbildung regelmässig in einer Stickstoffatmosphäre einzutreten pflegt.

Ist denn Luft, der der Sauerstoff theilweise entzogen ist, eine Stickstoffatmosphäre? Das kann ein Gemenge sein von Stickstoff, Sauerstoff, Kohlensäure, Argon, Ammoniumcarbonat, Ammoniumnitrit, Chlornatrium

[1] Hempel, *Gasanalytische Methoden.* 1900. S. 44, 133 ff.
[2] Weil, a. a. O.
[3] Buchner, *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde.* Bd. IV. S. 150.



und anderen Verbindungen. Hätte Klett reines Ammoniumnitrit erhitzt. den Stickstoff in den Bottkin'schen Apparat geleitet, bis alle Luft verdrängt war, dann wäre ihm eine einwandsfreie Stickstoffatmosphäre zur Verfügung gestanden, die ihn höchstwahrscheinlich veranlasst hätte, diesen ersten Theil seiner Publication nochmals einer genauen Nachprüfung zu unterziehen.

Der zweite Theil der Klett'schen Arbeit ist theoretisch einwandsfrei; Klett vertrieb die Luft in den geimpften Nährmedien durch chemisch reinen Wasserstoff; als Anaërobenapparate benutzt er nach der Roux-Heim'-schen Methode präparirte Reagensgläser und den Bottkin'schen Apparat.

Zu Klett's Erstaunen unterblieb in der einwandsfreien Wasserstoffatmosphäre die Sporenbildung auf allen Nährmedien, auf denen vorher „bei scheinbar streng anaëroben Bedingungen“ Sporen gebildet wurden, gänzlich. Nur auf Quitten- und Eibischschleim konnte er Sporen nach der rein objectiven biologischen Methode nachweisen.

Ich lasse die beiden hierher gehörigen Tabellen Klett's nebenstehend folgen.

Durch diese Resultate, den stets positiven Ausfall der Sporenbildung in der Buchner'schen Röhre im Vergleich zu dem stets negativen in der einwandsfreien Wasserstoffatmosphäre, glaubt sich Klett zu dem Schlusse berechtigt, dass die Stickstoffatmosphäre (in Wirklichkeit der Sauerstoff) das Zustandekommen der Sporen begünstige, während der Wasserstoff, in dessen Atmosphäre auf den gebräuchlichen Nährmedien niemals Sporen gebildet werden, einen schädigenden Einfluss auf die Entwickelung der Milzbrandbacillen ausübt, weshalb der Wasserstoff den Bakterien (nicht nur den Milzbrandbacillen) gegenüber nicht das indifferente Gas ist, für welches er bislang noch gehalten wird.

Solche offenbar unrichtige Folgerungen können indess die Resultate eines Hauser, eines Frankland oder eines Fränkel, die durch mühevolle experimentelle Arbeiten die Unschädlichkeit des Wasserstoffes den gebräuchlichen, auch noch so leicht zu Grunde gehenden Bakterien gegenüber nachgewiesen haben, nicht im mindesten beeinträchtigen.

Auf die Vorstellung Klett's, dass in flüssigen Nährmedien die Luft durch Wasserstoff nicht so gut verdrängt werden könne, wie in festen, da man die letzteren umzukehren vermag, will ich nicht näher eingehen.

Wenn ich beim Beginne meiner Erwiderung sagte, dass der Text in directem Widerspruch steht mit manchen in den Tabellen niedergelegten Daten, so erinnere ich nur an Tabelle IV.

Klett sagt, in der Wasserstoffatmosphäre werden von den Milzbrandbacillen keine Sporen gebildet. Wie verhält es sich mit der positiven Sporenbildung im Quittenschleim und im Eibischschleim?



Tabelle I.
Ausgangsmaterial: Herzblut einer an Milzbrand gestorbenen Maus.
Züchtung in Buchner'schen Röhren.

	Cultur angelegt	Cultur untersucht	Entwickelung	Sporenbildung
Agar	13. X.	16. X.	reichlich	reichlich
Agar + 3 Tr. Na. sulfurosum	13. X.	16. X.	„	„
Agar + 2 Tr. Na. selenosum	13. X.	16. X.	„	„
Traubenzuckeragar . . .	3. V.	5. V.	„	„
Bouillon	1. XI.	3. XI.	mässig reichlich	zieml. reichlich
Traubenzuckerbouillon . .	3. V.	5. V.	„	„
Bouillon + 3 Tr. Na. sulfur.	1. XI.	3. XI.	zieml. reichlich	„
Quittenschleim	20. XII.	22. XII.	„	„
Eibischschleim	20. XII.	22. XII.	„	„
Blutserum erstarrt . . .	16. VI.	19. VI.	mässig reichlich	mässig reichlich

Tabelle IV. Züchtung in Wasserstoff.
Ausgangspunkt: Sporenfreies Material aus dem Thierkörper.

	I. Gener.	II. Gener.	III. Gener.	IV. Gener.	V. Gener.
Agar	18. XII. Entw. + Spor. —	20. XII. Entw. + Spor. —	30. XII. Entw. + Spor. —	15. I. Entw. + Spor. —	22. I. Entw. + Spor. —
Bouillon	4. I. Entw. + Spor. —	15. I. Entw. + Spor. —	22. I. Entw. + Spor. —	30. I. Entw. + Spor. —	10. II. Entw. + Spor. —
Traubenzuckeragar . . .	10. IV. Entw. + Spor. —	18. IV. Entw. + Spor. —	21. IV. Entw. + Spor. —		
Traubenzuckerbouillon . .	10. IV. Entw. + Spor. —	18. IV. Entw. + Spor. —	22. IV. Entw. + Spor. —		
Gelatine	18. XII. Entw. + Spor. —	20. XII. Entw. + Spor. —	28. XII. Entw. + Spor. —	4. I. Entw. + Spor. —	15. I. Entw. + Spor. —
Quittenschleim	12. III. Entw. + Spor. —	16. III. Entw. + Spor. +	20. III. Entw. + Spor. —	27. III. Entw. + Spor. —	4. IV. Entw. + Spor. —
Eibischschleim	10. IV. Entw. + Spor. —	18. IV. Entw. + Spor. —	21. IV. Entw. + Spor. —	27. IV. Entw. + Spor. +	30. IV. Entw. + Spor. —

Will Klett behaupten, seine Versuche mit diesen beiden Nährmedien seien nicht einwandsfrei? Das zu beweisen, dürfte ihm schon deshalb schwer fallen, da die Resultate auf den übrigen in gleicher Weise behandelten Nährmedien, die ein einheitliches negatives Ergebniss zeigen, dagegen sprechen.

Wenn Klett einwendet, es ist doch nicht in allen Quitten- und Eibischschleimröhrchen Sporenbildung erfolgt, so frage ich: Ist denn den Individuen ein und derselben Bakterienart von der Natur ein mathematisch genaues Verhalten vorgeschrieben? Kennt nicht jeder Biologe das völlig verschiedene Verhalten selbst der Nachkommen einer einzigen Bakterienzelle?

Einer unserer bedeutendsten Bakterienkenner, Migula[1], betont in seiner Arbeit: „Ueber Abnahme und Regeneration der (aëroben) Sporenbildung bei Bakterien“ die bedauernswerthe Thatsache, dass sehr viele Arten, die im Anfange reichlich Sporen bildeten, nach und nach bei fortgesetzter Züchtung immer mangelhafter Sporen bilden, so dass man schliesslich selbst in sehr alten Culturen nur noch ganz vereinzelt Sporen findet.

Andererseits bin ich weit davon entfernt, zu behaupten, dass der wässerige Auszug von Quitten- und Eibischwurzeln etc. die natürliche Anlage der vegetativen Formen, Sporen zu bilden, derartig specifisch so zu beeinflussen vermag, dass jede vegetative Zelle des Milzbranderregers Dauerformen bilden muss. Es unterliegt keinem Zweifel, dass der feine und complicirte Mechanismus der physiologischen Bedingungen der Sporenbildung direct von mehreren Factoren abhängig ist; als solche kennen wir bis jetzt: den günstigen Einfluss der Temperatur und des Nährmediums; an der dritten, von den Autoren gewöhnlich angeführten physiologischen Bedingung der Sporenbildung „einer ungehinderten Zufuhr von Sauerstoff“ können wir, was die Milzbrandbacillen betrifft, nicht mehr festhalten.

Beim Studium der Sporenbildung unter streng anaëroben Bedingungen liess ich einwandsfreie Experimente entscheiden und begnügte mich mit der Constatirung der Thatsache, dass dieselbe auf unseren gebräuchlichen Nährböden ausbleibt, während es Nährböden giebt, auf denen die Milzbrandbacillen unter gleichen Bedingungen Sporen zu bilden vermögen, eine Thatsache, die ich zuerst experimentell festgestellt habe.

Wenn Klett in gesperrten Lettern sagt: **Zum Zustandekommen der Sporenbildung beim Milzbrand ist nicht die Anwesenheit von Sauerstoff erforderlich**, so bestätigt er die von mir festgestellte Thatsache. Von seinen eigenen Experimenten kann er zur Stütze der Bestätigung nur seine Quitten- und Eibischschleimversuche heranziehen.

[1] Migula, *Zeitschrift für angew. Mikroskopie.* Bd. V.



[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber die Regeneration aufgebrauchter globulicider Substanzen im inficirten Organismus.

Von

Dr. **Albert Schütze** und Dr. **Robert Scheller**.

In unserer Arbeit: „Experimentelle Beiträge zur Kenntniss der im normalen Serum vorkommenden globuliciden Substanzen"[1] sind wir auf Grund unserer Versuche zu dem Ergebniss gekommen, dass durch intravenöse Injection von genügend grossen Mengen rother Ziegenblutkörperchen die im normalen extravasculären Kaninchenserum für das Ziegenblut vorhandenen globuliciden Substanzen, speciell die entsprechenden Complemente, aufgebraucht werden. Wir konnten damals nachweisen, dass der Wiedereintritt der Regeneration der globuliciden Substanzen im normalen Serum meistens in den ersten 2 bis 4 Stunden nach der Injection erfolgt. Unter Hinweis auf die vollständige Analogie zwischen den globuliciden und baktericiden Substanzen zogen wir aus unseren Resultaten den Rückschluss auf die analogen Schicksale der baktericiden Substanzen.

Nachdem nun in jüngster Zeit A. Wassermann[2] den Nachweis geliefert hat, dass die Ursache der angeborenen Resistenz zu einem grossen Theile in dem Vorhandensein von Complementen, bezw. Alexinen, im Organismus zu sehen ist, können wir annehmen, dass die von uns gefundene relativ schnelle Regeneration der Complemente einen weiteren wichtigen Factor der natürlichen Immunität darstellt, und dass neben der

[1] *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI. 1901. S. 270ff.

[2] A. Wassermann, Ueber die Ursachen der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber gewissen Infectionen. *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 1.



Bildung der Antikörper die Erneuerung der bei einer starken Invasion von Mikroorganismen in den Thierkörper aufgebrauchten Complemente als eine zweckmässige Schutzmassregel des Organismus gegen die Krankheitserreger zu betrachten ist.

Im Hinblick hierauf und in Fortführung der in unserer ersten Arbeit[1] wiedergegebenen Experimente schien uns nun die Lösung der Frage von besonderem Interesse zu sein, wie sich die Verhältnisse bezüglich der Regeneration aufgebrauchter globulicider Substanzen, d. h. der Complemente, im extravasculären Serum von künstlich inficirten Versuchsthieren gestalten, also nachzusehen, ob nach vorausgeschickter Infection die Regeneration jener Substanzen eine zeitliche Veränderung, etwa eine Verzögerung oder eine vollständige Aufhebung erfährt oder nicht. Die Beantwortung dieser Frage schien für uns auch nach der rein praktischen Seite hin von Werth zu sein, weil der Ausfall unserer Versuche uns eventuell einen Aufschluss zu geben vermag über die auf dem Boden einer primären Infection bekanntermassen so leicht auftretende und oftmals mit letalem Ausgange endende Secundär- bezw. Mischinfection.

Es war nun für uns von grosser Wichtigkeit, als Infectionsmaterial eine Bakterienart zu wählen, welche einmal eine krankmachende und sicher tödtliche Wirkung auf die Versuchthiere ausübte, dieselben aber andererseits so lange am Leben liess, wie es der weitere Gang unserer Experimente nothwendig erscheinen liess. Als ein für diese Zwecke besonders geeignetes Infectionsmittel erwies sich uns die Hog-Cholera (amerikanische Schweineseuche), welche erfahrungsgemäss ein Kaninchen innerhalb 2 bis 4 Tagen sicher zu tödten vermag. Nachdem wir uns durch mehrfache Versuche davon überzeugt hatten, dass $^{1}/_{10}$ Oese einer 24stündigen Agarcultur von Hog-Cholera, deren gütige Ueberlassung wir Hrn. Prof. A. Wassermann verdanken, intravenös injizirt, innerhalb dieser Zeit ein Kaninchen unter den Erscheinungen allgemeiner Abmagerung und Schwäche tödtet, konnten wir nunmehr an die „Anstellung" unserer zur Lösung der vorliegenden Frage erforderlichen Versuche herantreten, welche sich im Uebrigen eng an die in unserer vorigen Arbeit veröffentlichten Experimente anschliessen und in vollständig analoger Weise ausgeführt worden sind. Wir gingen also wieder so vor, dass wir in der bekannten Weise das aus der Ohrvene eines Kaninchens gewonnene Blutserum auf seine hämolytische Wirkung dem Ziegenblut gegenüber prüften. Nachdem wir uns von dem Vorhandensein globulicider Substanzen für diese Blutart überzeugt hatten, welche, wie wir bereits früher betont hatten, durchaus nicht bei allen Versuchsthieren angetroffen wurden, injicirten wir nun

[1] Vgl. *diese Zeitschrift.* Bd. XXXVI. S. 270 ff.



meistens je $^1/_{10}$ Oese einer 24stündigen Hog-Choleracultur in einer Aufschwemmung von steriler Bouillon denjenigen Kaninchen in die Ohrvene, deren Serum eine deutlich auflösende Kraft für Ziegenblut (s. u. 0·5 bezw. 1·0 : 3·0 ccm einer 5procentigen Verdünnung von frischem defibrinirtem Ziegenblut in physiol. Kochsalzlösung) gezeigt hatte. In einigen Fällen freilich erschien es uns rathsam, der Grösse der Thiere und den sonstigen speciellen Versuchsanforderungen Rechnung tragend, diese Dosis auf $^1/_{20}$ Oese herabzusetzen, während wir auch einige Male, wie dies weiter unten ersichtlich sein wird, namentlich grossen Kaninchen bis zu $^1/_5$ Oese dieser Bakteriencultur intravenös einverleibten. Nach Ablauf von 24 bis 48 Stunden, je nach dem Befinden unserer Thiere, injicirten wir nun denselben intravenös diejenigen Mengen rother Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung, welche nach unserer Berechnung zum Aufbrauch der entsprechenden globuliciden Substanzen, bezw. der Complemente, der Kaninchen nothwendig waren. Da nun die Thiere durch die vorausgeschickte künstliche Bakterieninfection in ihrer Widerstandsfähigkeit bereits erheblich geschwächt waren und zur Zeit der in Aussicht genommenen Ziegenblutinjection stets schon deutliche Zeichen der Erkrankung, Abmagerung und Schwäche, erkennen liessen, so mussten wir mit besonderer Vorsicht darauf bedacht sein, zu verhindern, dass Beimengungen von Ziegenserum zusammen mit der Injectionsflüssigkeit (abcentrifugirte rothe Ziegenblutkörperchen mit physiol. Kochsalzlösung auf das frühere Volumen gebracht) in den thierischen Organismus mit hineingebracht wurden, da, wie wir uns überzeugen konnten, auch nur geringe Quantitäten miteingespritzten Ziegenserums, welches an sich schon in einer Dosis von 0·1 je 3 ccm einer 5procentigen Verdünnung von Kaninchenblut in physiol. Kochsalzlösung[1] aufzulösen im Stande war, das schwer kranke Thier unter Umständen vor der Zeit zu tödten vermochten, also bevor es möglich war, zur angesetzten Stunde Blut aus der Ader zwecks Prüfung auf den eventuell erfolgten Wiedereintritt der Regeneration zu gewinnen. Da wir in Folge der grossen Schwäche der inficirten Thiere dieselben nur einer einmaligen grösseren Blutentziehung aussetzen konnten, gingen wir so vor, dass wir zuvörderst in denselben Zeiträumen wie beim nicht inficirten, d. h. nur mit Ziegenblutkörpercheninjection vorbehandelten Kaninchen, das Serum der inficirten Thiere auf Regeneration untersuchten, und erst als wir durch übereinstimmende Resultate ermittelt hatten, dass innerhalb der für ein gesundes Thier gefundenen Zeit, also innerhalb 2 bis 4 Stunden, die Regeneration

[1] Berichtigung: In unserer vorigen Arbeit, *diese Zeitschrift*, Bd. XXXVI, S. 275, Anm. 3 soll es heissen statt: „5procentigen Ziegenblutmenge“ 5procent. Kaninchenblutmenge, und statt „normales Kaninchenserum“ normales Ziegenserum.



ausnahmslos hier noch nicht erfolgt war, konnten wir je nach dem Kräftezustand und Allgemeinbefinden unserer Kaninchen daran gehen, das Intervall zwischen Ziegenbluteinspritzung und Entblutung zu verlängern. Wenn freilich auch bei diesen Experimenten zahlreiche Thiere vor der für die Entblutung in Aussicht genommenen Zeit in Folge der Infection starben und mithin für unsere Versuche verloren gingen, so gelang es uns doch eine grosse Reihe von Kaninchen 6 bis 8 Stunden und länger, ja in einigen Fällen sogar 18 bis 20 Stunden nach der Ziegenbluteinspritzung am Leben zu erhalten. Die mit dem Serum aller dieser Thiere vorgenommene Prüfung hat nun das eindeutige Resultat ergeben, dass die Regeneration der globuliciden Substanzen für das Ziegenblut nach 6 bis 10, ja selbst nach 18 bis 20 Stunden noch nicht wieder eingetreten, bezw. aufgehoben war.

Der Uebersicht halber wollen wir uns gestatten, hier im Protokoll einen Auszug aus unseren zahlreichen Versuchen folgen zu lassen:

Kaninchen, 1500 grm schwer.

3. II. Vorversuch: Das aus der Ohrvene gewonnene Blutserum löst in einem Verhältniss von 1 : 3 ccm einer 5 procent. Ziegenblutkochsalzmischung während eines einstündigen Aufenthaltes im Brütschrank bei 37° C. die rothen Blutkörperchen der Ziege vollständig.

4. II. 12 Uhr Mittags: $^1/_{20}$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

5. II. 12 Uhr Mittags: 12 ccm einer Aufschwemmung von rothen Ziegenblutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung intravenös injicirt. 4 Uhr Nachmittags: Thier entblutet.

6. II. Das auf Eis abgeschiedene Serum löst selbst im Verhältniss von 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Kaninchen, 1600 grm schwer.

5. II. Vorversuch: Serum löst 0·9 : 3·0 ccm 5 procent. Ziegenblutkochsalzmischung unter denselben Bedingungen.

6. II. 1 Uhr Nachmittags: $^1/_{10}$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

7. II. 12 Uhr Mittags: 14 ccm Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 4 Uhr Nachm.: Thier wird entblutet, Serum auf Eis gesetzt.

8. II. Serum löst selbst in Dosen von 1·5 und 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin in diesen beiden Versuchen innerhalb 4 Stunden keine Regeneration.

Kaninchen, 2000 grm schwer.

19. II. Vorversuch: Serum löst 0·5 : 3·0 ccm Ziegenblut.

20. II. 12 Uhr Mittags: $^1/_{10}$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

22. II. (also nach 2 Tagen). 12 Uhr Mittags: 16 ccm Ziegenblutkörperchen-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 5 Uhr Nachmittags: Thier entblutet, Serum auf Eis.

23. II. Serum löst 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin nach 5 Stunden noch keine Regeneration.



Kaninchen, 1950 grm schwer.

24. II. Vorprobe: Serum löst 0·5 : 3·0 ccm Ziegenblut.

25. II. $^1/_{10}$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

27. II. (also nach 2 Tagen). 11 Uhr Vormittags: 17 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 5 Uhr Nachmittags: Thier entblutet.

28. II. Serum löst selbst 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Kaninchen, 1500 grm schwer.

11. III. Vorprobe: Serum löst 0·5 : 3·0 ccm Ziegenblut.

12. III. $^1/_8$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

13. III. 12 Uhr Mittags: 14 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 6 Uhr Abends: Thier entblutet.

14. III. Serum löst 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin ist in diesen beiden Versuchen auch nach 6 Stunden noch keine Regeneration erfolgt.

Kaninchen, 2000 grm schwer.

14. III. Vorprobe: Serum löst 1·0 : 3·0 ccm Ziegenblut.

15. III. $^1/_5$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

16. III. 10 Uhr Vormittags: 14 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 6 Uhr Abends: Thier entblutet.

17. III. Serum löst 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht; zeigt mithin auch nach 8 Stunden noch keine Regeneration.

Kaninchen, 1875 grm schwer.

19. III. Vorprobe: Serum löst 0·5 : 3·0 ccm Ziegenblut.

20. III. $^1/^{10}$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

21. III. 10 Uhr Vormittags: 15 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt. 8 Uhr Abends: Thier entblutet.

22. III. Serum löst 1·5 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin auch 10 Stunden nach der Ziegenblutinjection noch keine Regeneration.

Kaninchen, 2100 grm schwer.

19. III. Vorprobe: Serum löst 1·0 : 3·0 ccm Ziegenblut.

20. III. $^1/_5$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

21. III. 5 Uhr Nachmittags: 14 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt.

22. III. 11 Uhr Vormittags: Thier sehr schwach, wird entblutet.

23. III. Serum löst selbst 1·5 und 2·0 : 3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin auch nach 18 Stunden noch keine Regeneration.

Kaninchen, 1975 grm schwer.

19. III. Vorprobe: Serum löst 0·8 : 3·0 ccm Ziegenblut.

20. III. $^1/_6$ Oese Hog-Cholera intravenös injicirt.

21. III. 6 Uhr Nachmittags: 15 ccm Ziegenblut-Kochsalzmischung intravenös injicirt.



22. III. 2 Uhr Nachmittags: Thier ausserordentlich schwach, wird entblutet.

23. III. Serum löst 1·5:3·0 ccm Ziegenblut nicht.

Mithin ist auch nach 20 Stunden noch keine Regeneration eingetreten.

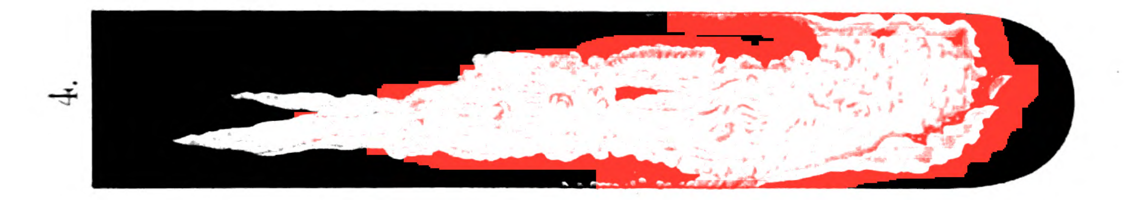
Aus diesen Versuchen geht unzweifelhaft hervor, dass in allen Fällen, soweit die Zeit unserer Beobachtung reichte, der Wiedereintritt der globuliciden Substanzen im Serum der mit Hog-Cholera zuvor geimpften Kaninchen selbst 20 Stunden nach der vorgenommenen Ziegenblutinjection nicht erfolgt ist, und mithin die Regeneration dieser Substanzen, speciell der Complemente, im inficirten Organismus erheblich verzögert, eventuell aufgehoben ist.

Wie wir schon Eingangs erwähnt haben, gestattet uns die Analogie zwischen globuliciden und baktericiden Substanzen, einen Rückschluss von unseren an globuliciden Substanzen gewonnenen Erfahrungen auf die analogen Vorgänge an den baktericiden Substanzen zu ziehen. Da wir nun gesehen haben, dass aufgebrauchte oder gebundene Complemente im inficirten Organismus sehr langsam oder überhaupt nicht regenerirt werden, so giebt uns diese Beobachtung vielleicht ein neues Erklärungsmoment für die klinisch feststehende Thatsache, dass sich der inficirte Organismus in seiner Widerstandskraft gegenüber dem Fortschreiten einer secundären Infection, für welche sich ein gesunder, nicht geschwächter Organismus resistent verhält, herabgesetzt zeigt.

Zum Schlusse gestatten wir uns, Hrn. Prof. A. Wassermann für sein freundliches Interesse, welches er auch dieser Arbeit entgegengebracht hat, unseren verbindlichsten Dank auszusprechen.



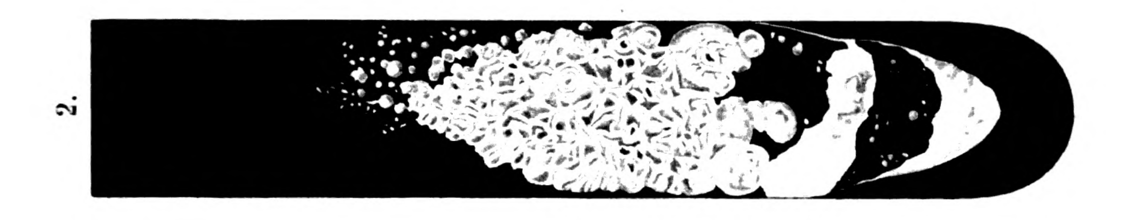
4.



3.



2.



1.



Verlag Veit & Comp. Leipzig.

Lith. Anst. v. E. A. Funke Leipzig.

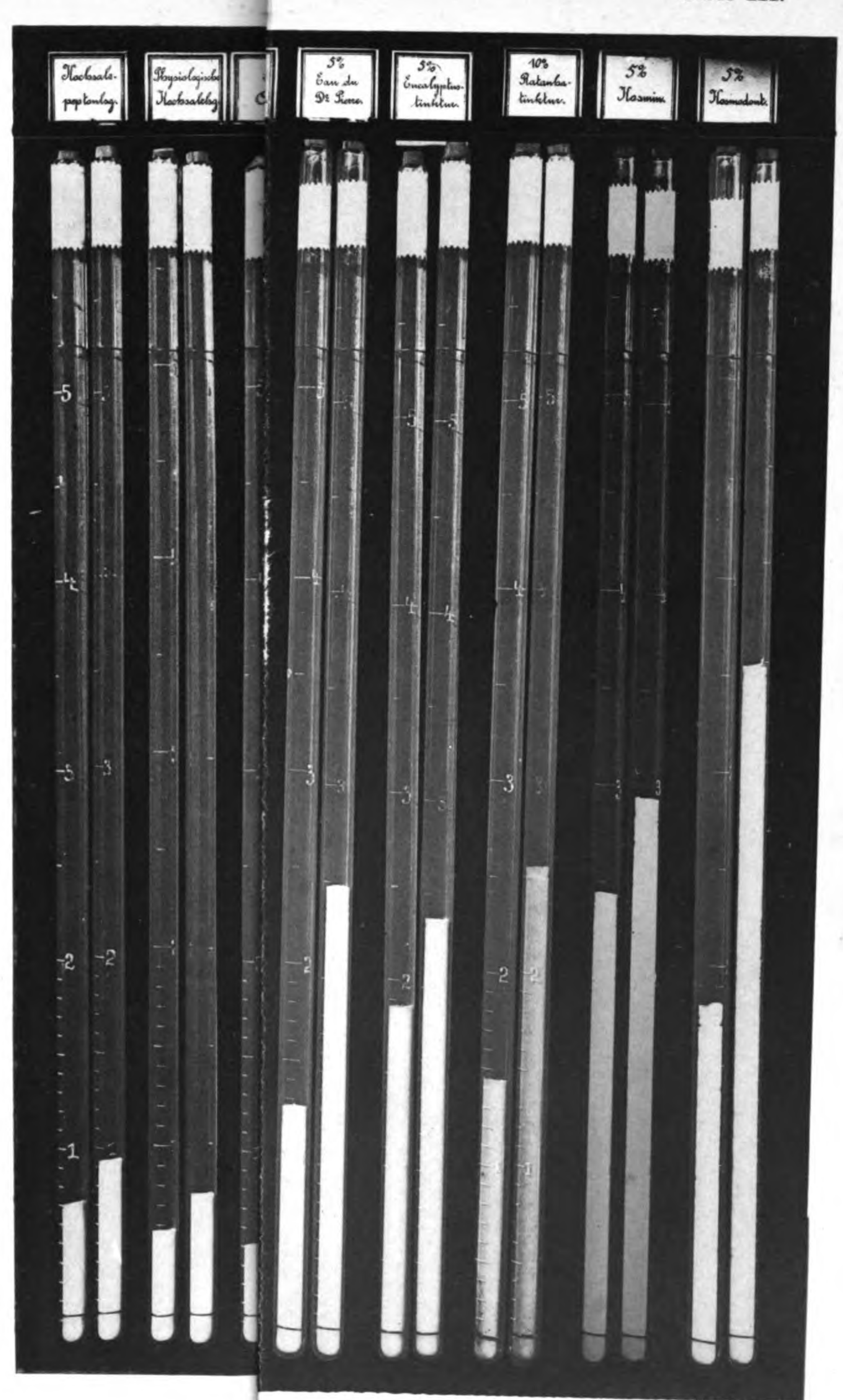
1. 2.

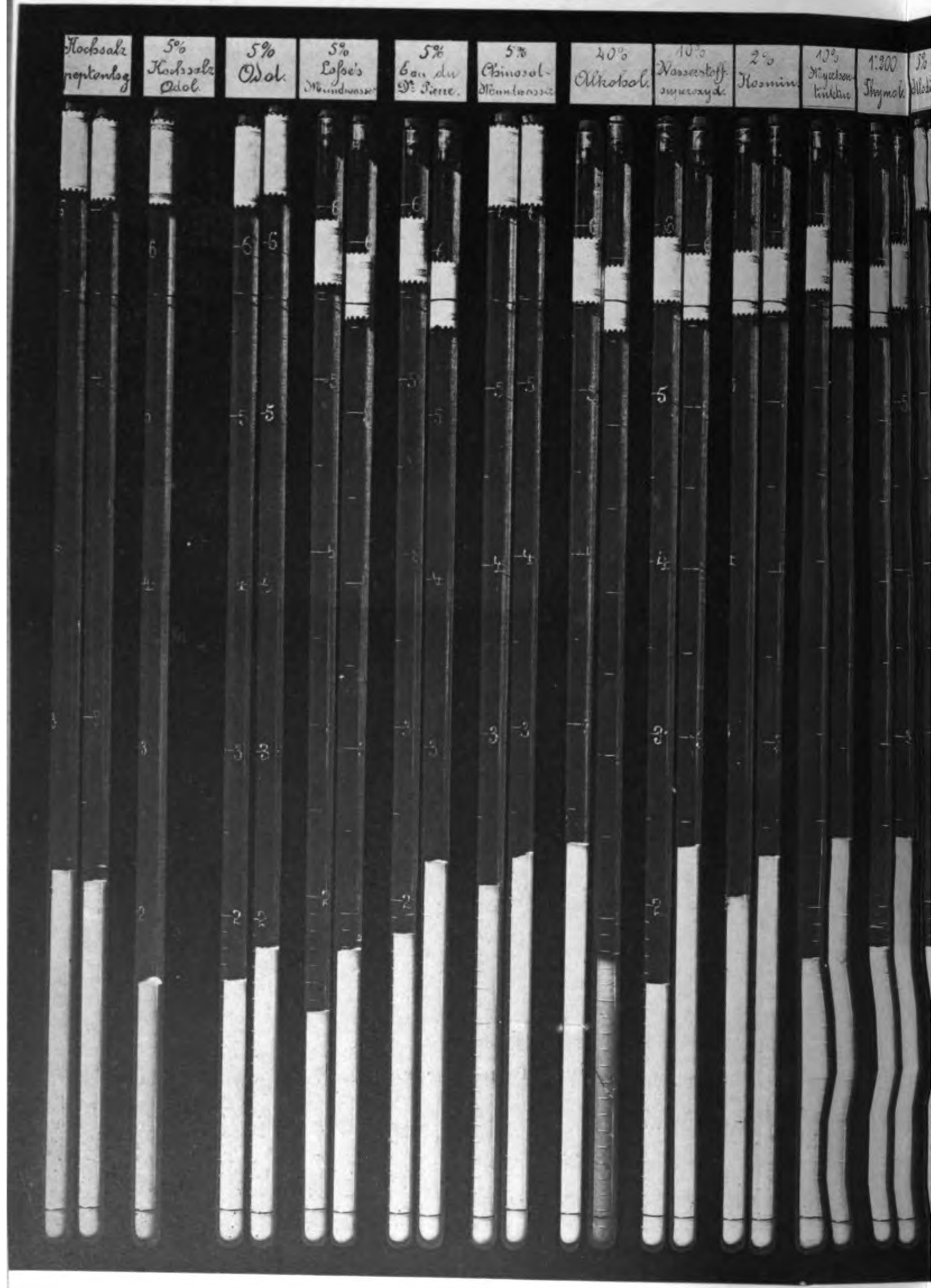
3. 4.

5. 6.

Verlag Veit & Comp. Leipzig.







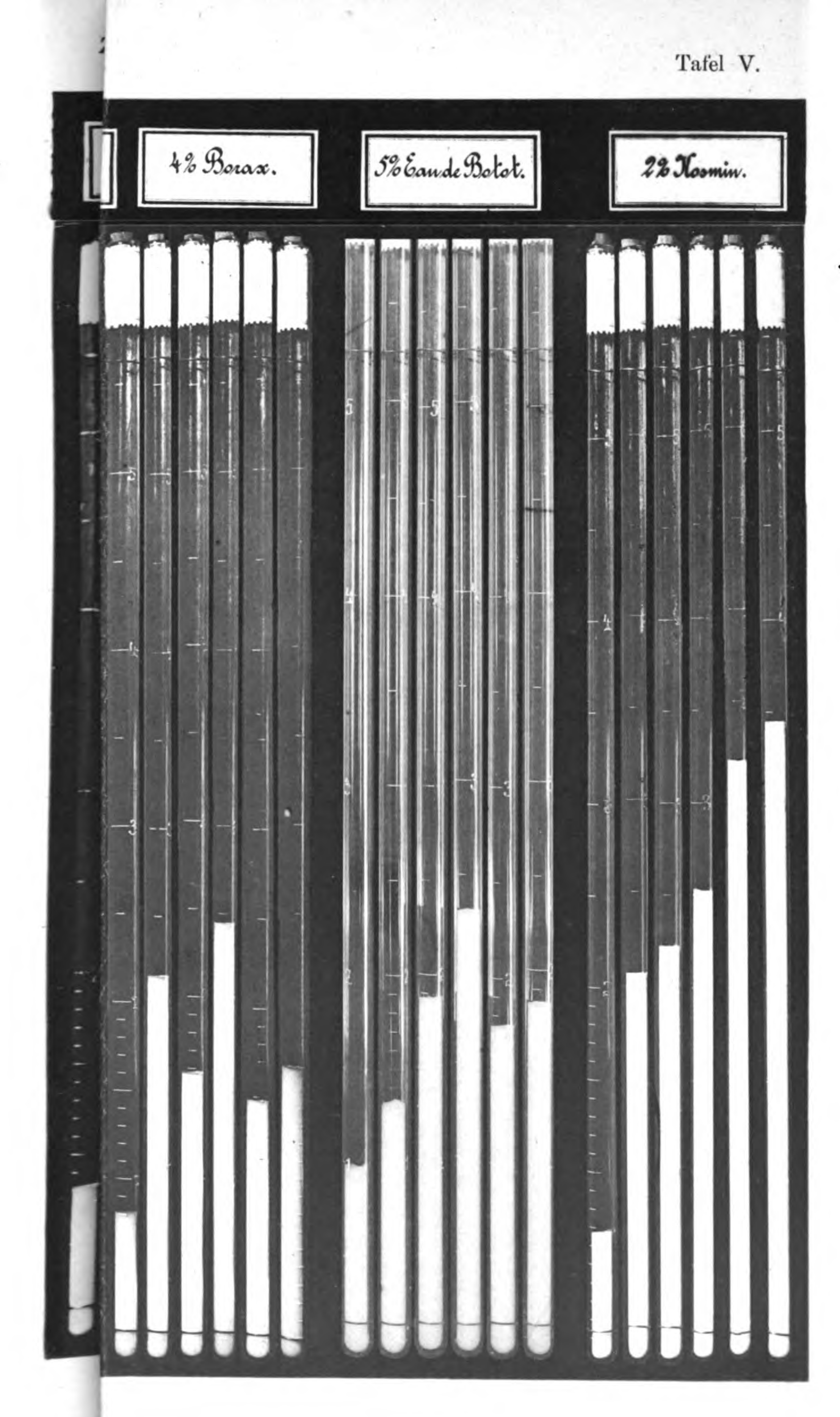
Verlag von VEIT & C

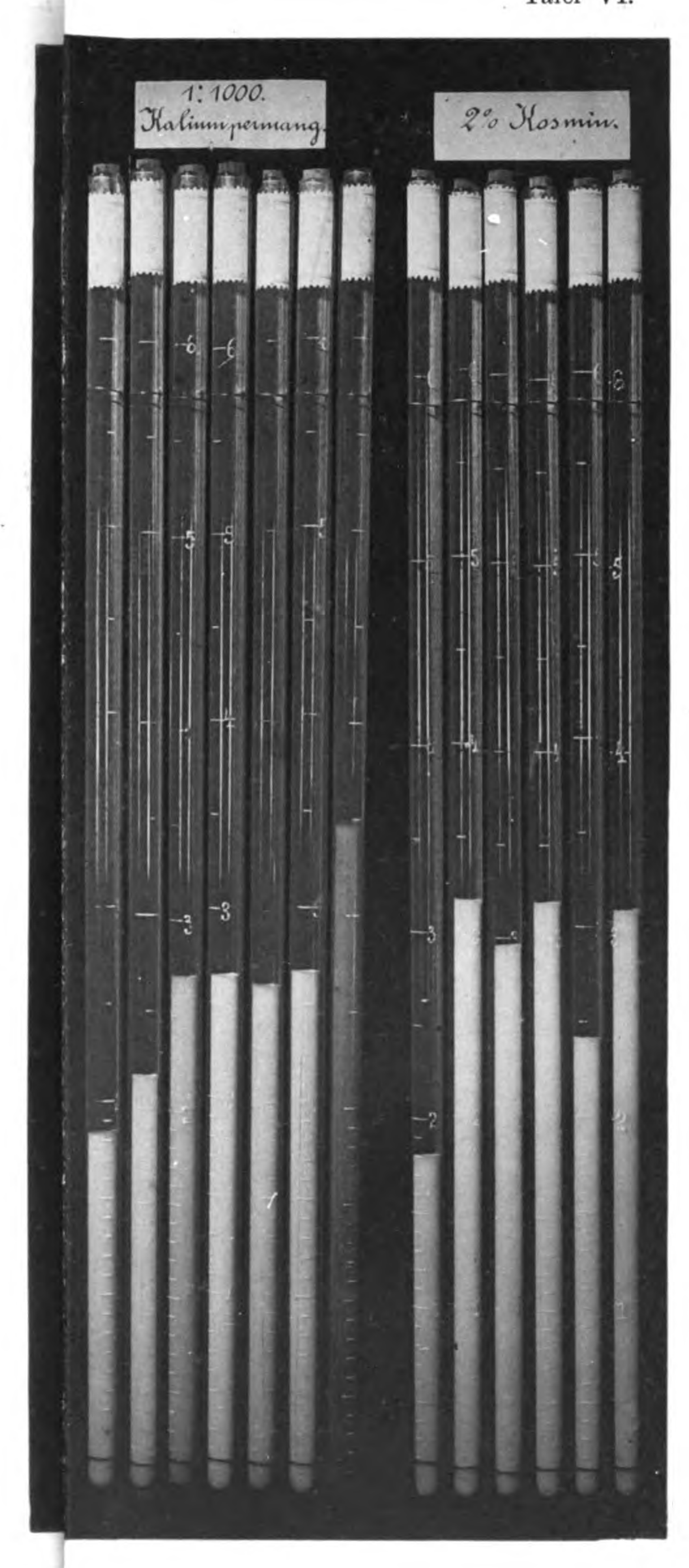
Tafel IV.

5% Jllodin. | 5% Odonta. | 1% Ammonium carbonicum | 5% Osan. | 1% Sapo medic. | 5% Kosmin. | 10% Eucalyptus tinktur. | 10% Kino-tinktur. | 1:200. Acidum tannicum. | 10% Ratanha-tinktur | 5% Kosmodont

OMP. in Leipzig.




4% Borax.
5% Eau de Botot.
2% Kosmin.


1 : 1000.
Kaliumpermang.
2% Kosmin.

Zeitschrift fü



Physiologische Kochsalzlösung | 5.% Odol. | 10.% Ratanha-tinktur. | 10.% Eucalyptus-tinktur. | 5.% Kosmin. | 1:1000 Kalium permanganat. | 10.% Wasserstoff-superoxyd.

10.% Wasserstoff-superoxyd.: 24/6. 25/6. 26/6.

1:200 Acid. tannicum.: 28/6. 29/6. 30/6.

Verlag Veit & Comp. Leipzig

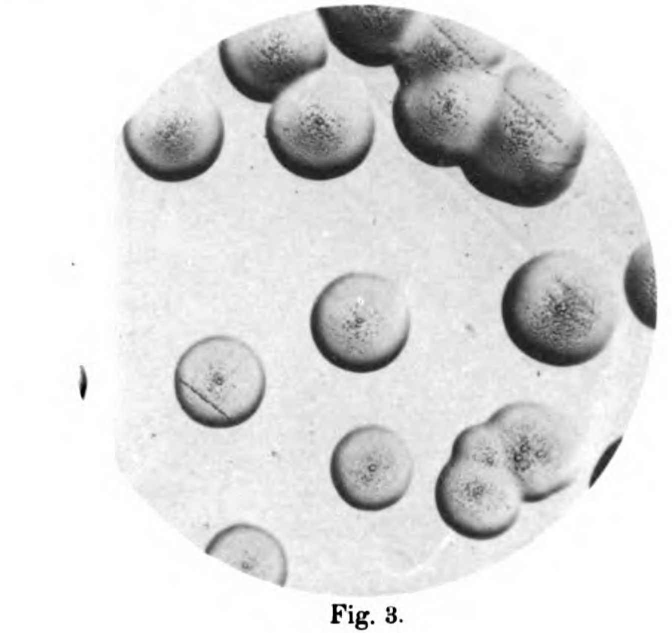


Fig. 3.

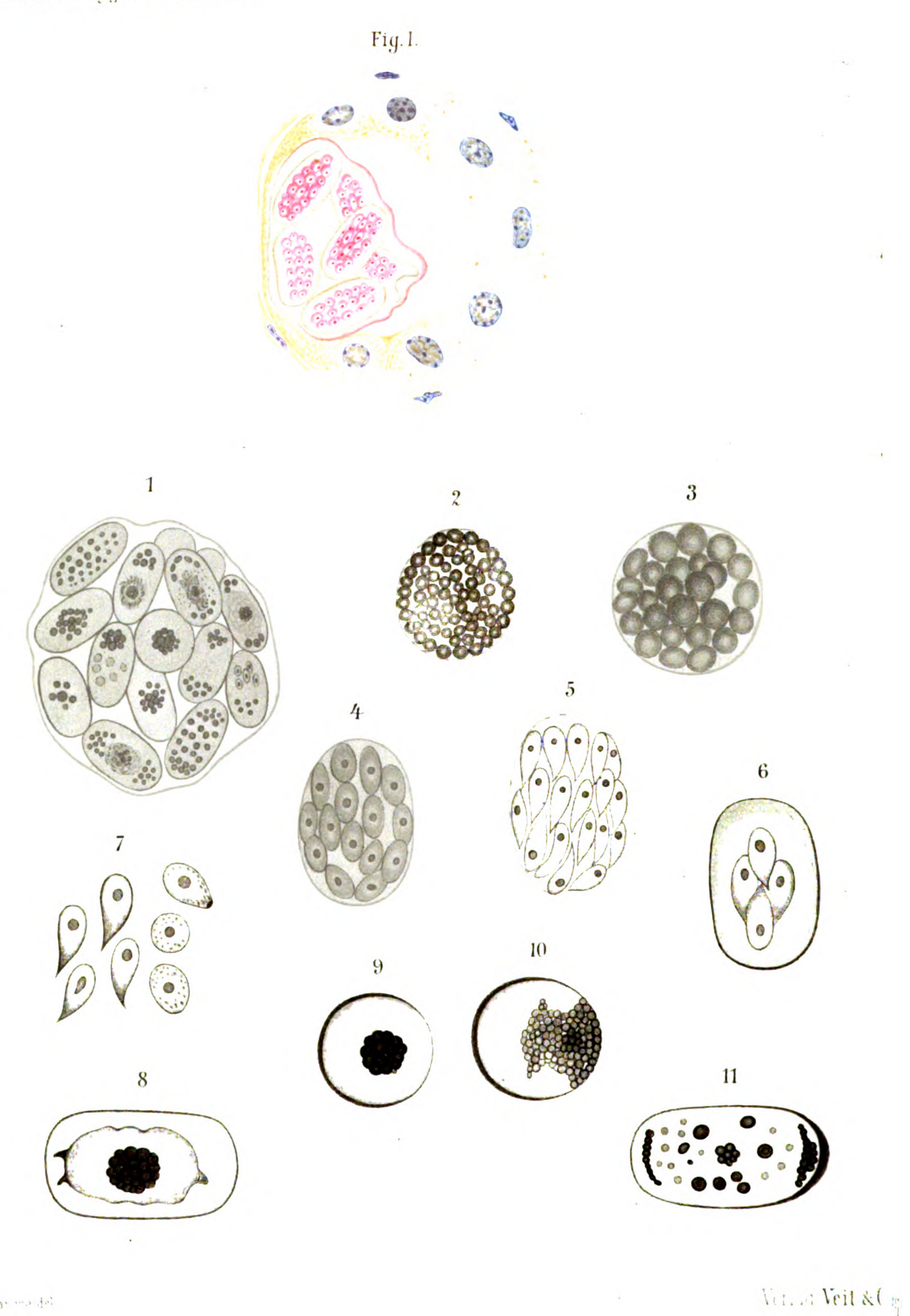
Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 4.

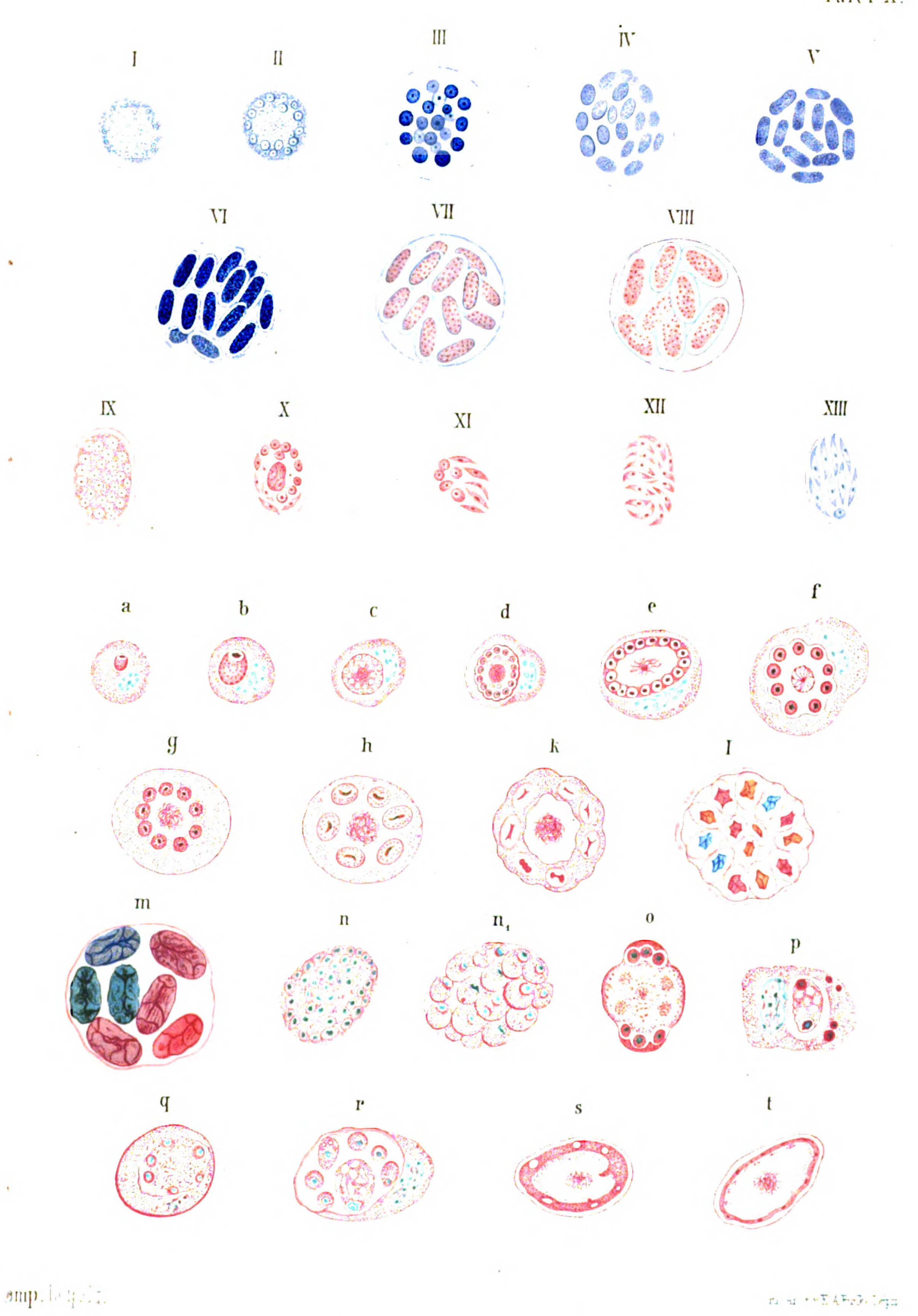
photogr. Gummel.

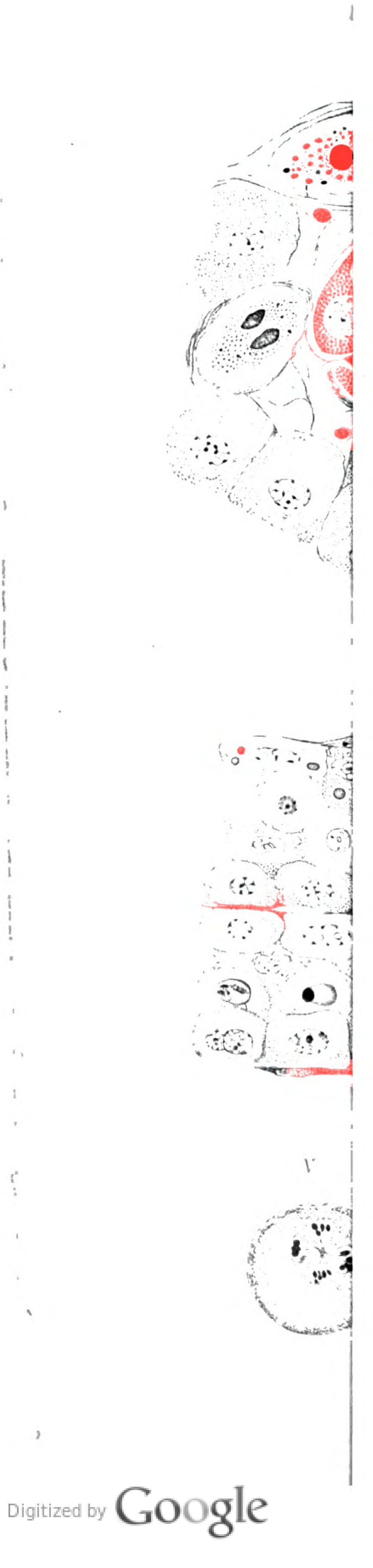
Verlag von VEIT & COMP. in Leipzig.



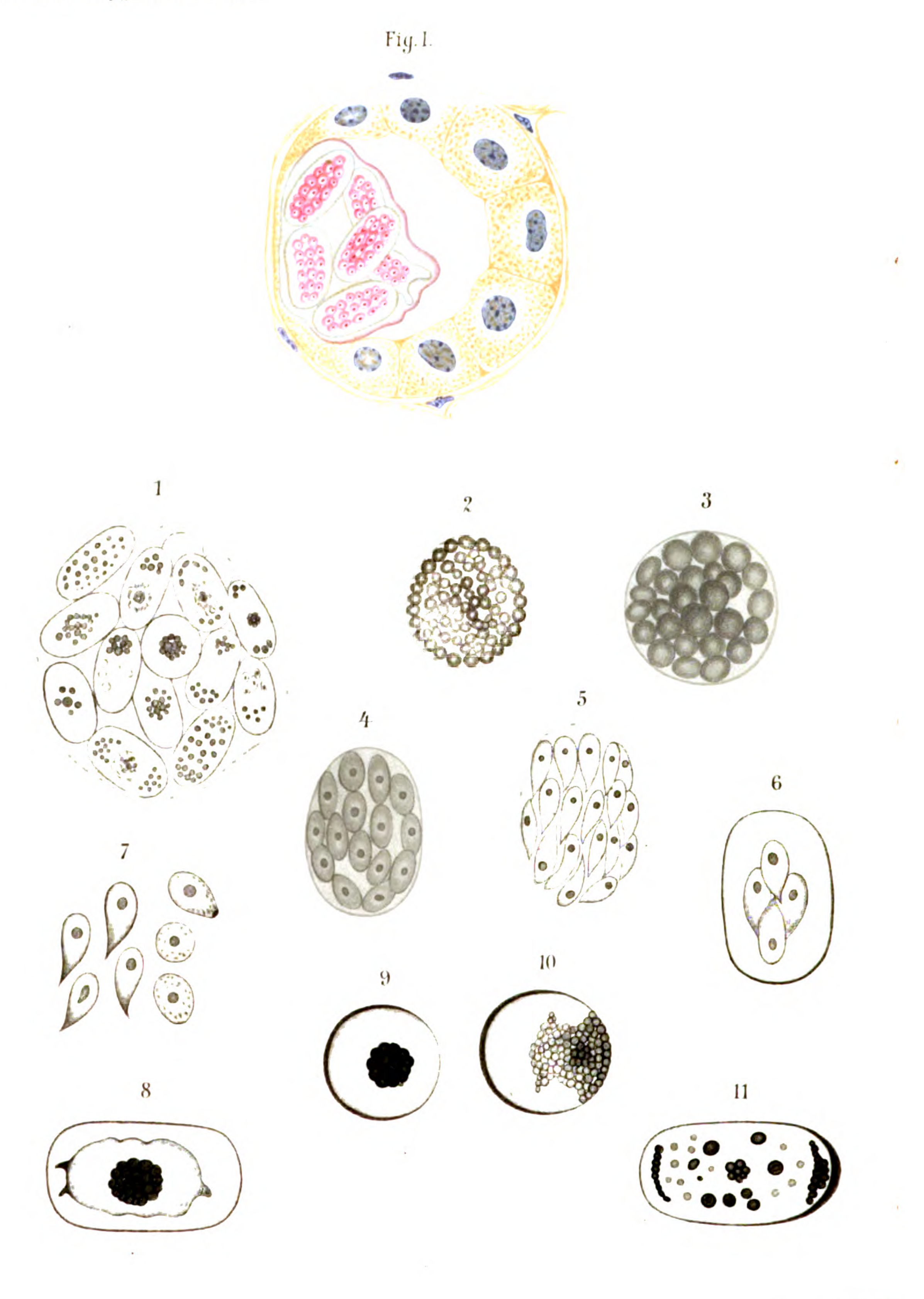
Verlag Veit & Comp.

Tafel X.


I
II
III
IV
V
VI
VII
VIII
IX
X
XI
XII
XIII
a
b
c
d
e
f
g
h
k
l
m
n
n₁
o
p
q
r
s
t


Zeitschrift für Hygiene
V


Zeitschrift für Hygien
V



Verlag Veit & C.

Tafel X.

I II III IV V

VI VII VIII

IX X XI XII XIII

a b c d e f

g h k l

m n n_1 o p

q r s t



